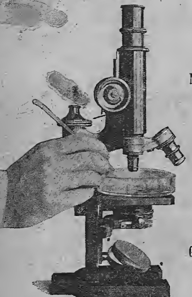
MANUEL
DE
SÉROTHÉRAPIE
ANTIDIPHTÉRIQUE

PAR

le Dr M. FUNCK
Chef des travaux bactériologiques a l'Institut sérothérapique
de Bruxelles.



PRÉFACE
DE
M. le Profr E. DESTRÉE

PARIS
Georges CARRÉ, Éditeur
3, Rue Racine

1895

MANUEL

DE

SÉROTHÉRAPIE

ANTIDIPHTÉRIQUE

Bruxelles. — F. HAYEZ, imp. de l'Acad. royale.

MANUEL

DE

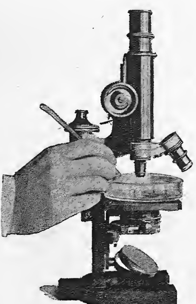
SÉROTHÉRAPIE

ANTIDIPHTÉRIQUE

PAR

le Dr M. FUNCK
Chef des travaux bactériologiques à l'Institut sérothérapique
de Bruxelles.





PRÉFACE

DE

M. le Profr E. DESTRÉE

PARIS
Georges CARRÉ, Éditeur
3, Rue Racine
1895

A

MONSIEUR LE DOCTEUR A. WASSERMANN

ASSISTANT A L'INSTITUT KOCH

A BERLIN.

HOMMAGE DE RECONNAISSANCE.

TABLE DES MATIÈRES

DEUXIÈME PARTIE.

LES APPLICATIONS DU SÉRUM DANS LA DIPHTÉRIE EXPÉRIMENTALE.

TROISIÈME PARTIE.

LES APPLICATIONS DU SÉRUM AUX MALADES. LES RÉSULTATS DE LA SÉROTHÉRAPIE.

PRÉFACE.

—

LA SÉROTHÉRAPIE ANTIDIPHTÉRIQUE DANS L'ÉVOLUTION DE LA THÉRAPEUTIQUE.

« Nous vivons dans un temps où il est bon de vivre, quand on s'intéresse aux choses de la médecine, » écrivait Bouchard, en 1887, en tête d'un de ces livres qui font réfléchir; et cette phrase exprime si bien cette sorte d'enthousiasme, contenu et continu, qui mène les recherches médicales contemporaines, qu'elle s'évoque dans la mémoire chaque fois qu'une découverte nouvelle élargit nos conceptions et vient résoudre un des nombreux problèmes de la pathologie.

C'est encore cette phrase simple qui est spontanément revenue à l'esprit, lorsque les travaux de Behring et de Roux ont apporté la sérothérapie antidiphtérique au monde médical et ont fait sortir d'expériences scientifiques sur l'immunité des procédés pratiques, capables de lutter contre une des maladies les plus cruelles que nous connaissions. La science du laboratoire remportait ainsi une des victoires qu'attendaient

d'elle tous les médecins qui la suivaient dans ses patients essais et ses lentes recherches.

Depuis les découvertes de Pasteur et l'impulsion formidable que celles-ci avaient donnée aux études sur la pathogénie, la classe des maladies infectieuses avait dû élargir ses cadres et y recevoir toute une liste d'affections dont la nature plus ou moins méconnue était restée l'objet d'interminables discussions. L'origine microbienne de cette longue série de processus morbides nettement et définitivement établie, on attendait que la bactériologie donnât à la pratique médicale autre chose que des constatations scientifiques et des procédés prophylactiques.

Mettant immédiatement à profit les faits mis en évidence par la bactériologie née seulement d'hier, l'hygiène avait révolutionné ses procédés d'investigation, modifié même ses enseignements et établi sur des bases plus solides tout l'édifice de ses lois, jusque-là quelque peu empiriques.

Quant à la thérapeutique, à l'application des notions nouvelles au traitement rationnel des processus dont la nature venait d'être si brusquement reconnue, certes, si on songeait à lui voir modifier ses procédés, nul n'osait compter encore lui voir faire des progrès aussi considérables que ceux de l'hygiène.

Cependant les succès que les méthodes anti-

septiques avaient fournis à l'art chirurgical, les émerveillements devant les résultats qu'obtenait la pratique modifiée de la chirurgie moderne, étaient de nature à faire espérer que tôt ou tard la thérapeutique des maladies internes pourrait aboutir à des changements analogues. C'est cet espoir qui a provoqué tant de recherches dans le groupe des agents antiseptiques proprement dits. Depuis vingt ans le nombre de ces agents recommandés au monde médical a décuplé peut-être.

Quelques esprits, il est vrai, poussés par une prudence qui paraissait excessive vis-à-vis de l'enthousiasme à peu près général, protestaient et soutenaient que la thérapeutique moderne était dévoyée, qu'au milieu de tous ces corps antiseptiques il n'était plus possible de se reconnaître, que la tendance nouvelle était dangereuse, car c'était espérer tuer le microbe sans atteindre l'organisme envahi et malade, et qu'enfin ce qui caractérisait et faisait la maladie, c'était la lésion produite et présente et non pas la cause productrice, mais éloignée.

A tous ces arguments, on a répondu par l'étude attentive des agents antiseptiques préconisés, par la recherche incessante de l'antiseptique le plus bactéricide possible et en même temps le moins toxique pour l'organisme humain, et, il

faut le dire, ces travaux nous ont fourni une ample récolte de moyens précieux dans leurs indications particulières. Quant à la question de savoir si le but de la thérapeutique est de lutter contre une lésion produite ou contre sa cause productrice, elle réveille l'écho des discussions les plus anciennes de l'art de guérir.

Pour nous, il nous semble que la thérapeutique doit se baser surtout sur la pathogénie, la chimie physiologique et la pathologie générale; que c'est en se dirigeant d'après les indications de ces sciences qu'elle a le plus de chances d'atteindre à quelque résultat, et qu'en se basant uniquement sur l'anatomie pathologique, en luttant contre des lésions marquées et grossières, elle ne pourra guère aboutir qu'à des insuccès.

Cependant, il faut le reconnaître, la méthode antiseptique ne paraît pas destinée à révolutionner la thérapeutique. Devant atteindre la virulence et la vitalité des bactéries, un agent antiseptique ne peut avoir d'effet réel qu'autant qu'il soit mis en contact direct, immédiat et souvent même très prolongé avec ces bactéries. C'est ce qui se passe dans le traitement d'une plaie, dans le lavage d'une cavité accessible; et c'est ce qui a fourni des triomphes aux pratiques chirurgicales si audacieuses que nous enregistrons aujourd'hui. Mais il n'en est plus de même quand, pour

le mettre en contact avec des bactéries dans l'organisme, nous devons livrer un antiseptique aux hasards de l'absorption, aux modifications chimiques qu'il subira dans l'économie, à la dilution extrême qui se fera dans le torrent circulatoire, à la rétention qui se manifestera dans les organes protecteurs de l'économie vis-à-vis des poisons, comme le foie, la moelle des os, etc.

A cette objection contre l'application de la méthode antiseptique au traitement des maladies infectieuses, on a pu répondre qu'il était possible de trouver un antiseptique d'une puissance telle que même partiellement absorbé, altéré, modifié et retenu dans les appareils protecteurs de l'économie, il agisse encore, énormément dilué, sur les bactéries éparses dans l'organisme. Mais pour concevoir tel antiseptique, il faut qu'il ait une puissance bactéricide presque spéciale à ces bactéries. Trouver des antiseptiques de valeur spéciale et intense et les appliquer au traitement d'une maladie déterminée, ce n'est plus tendre à faire de la thérapeutique antiseptique, mais de la thérapeutique spécifique.

Cette thérapeutique spécifique est celle qu'au fond de nos conceptions sur la thérapeutique de l'avenir nous avons rêvée, et que les découvertes multipliées de la bactériologie n'ont pas cessé de

nous faire espérer. A la notion première d'une maladie spécifique provoquée par l'envahissement et l'évolution intraorganique d'un microbe spécifique, est venue plus tard se substituer la notion de la maladie provoquée par l'empoisonnement par la toxine spécifique due au développement et à la vitalité du microbe; mais quelle que soit l'explication que les progrès de la biologie microbienne aient donnée aux processus pathologiques, on a toujours eu la conviction que pour chaque bactérie il existe un corps chimique particulièrement nocif, comme pour elle il y a un terrain organique particulièrement favorable. Ce terrain organique, modifiable dans sa constitution, peut n'être que momentanément favorable au développement d'une bactérie pathogène et c'est ce qui constitue la réceptivité morbide. Ne voyons-nous pas que des conditions identiques peuvent ou non provoquer l'invasion bactérienne et ne donnent lieu qu'à un certain moment à la maladie? Ce sont des altérations fortuites, chimiques et physiques, de l'organisme qui le rendent susceptible de contracter une affection morbide infectieuse.

La recherche d'un médicament spécifique contre une maladie infectieuse se résume donc encore aujourd'hui, après toutes les notions que nous avons acquises sur la pathogénie des infec-

tions, à répondre à cette formule de Bouley : « Étant donnée une maladie infectieuse, rechercher l'élément modificateur qui rend le milieu organique impropre à la culture de l'élément infectieux. »

Et sans rien préjuger sur la façon dont elle y parviendrait, le monde des praticiens pensait que tôt ou tard la science tranquille des laboratoires arriverait, à force de patiente obstination, à résoudre ce problème. C'est ce qui explique la confiance avec laquelle tous les médecins ont accueilli la nouvelle des découvertes auxquelles les noms de Behring et de Roux resteront attachés.

L'étude clinique des maladies infectieuses, éclairée par les idées modernes sur leur pathogénie, a amené un rapprochement de plus en plus marqué entre la notion d'immunité et celle de guérison. Ce cycle régulier que la maladie infectieuse parcourt tant qu'elle ne se complique pas d'éléments étrangers, cette évolution presque fatale qu'elle montre, envahissant l'organisme, l'intoxiquant, l'amenant à un degré extrême d'affaiblissement et de détresse pour diminuer presque à jour fixe et laisser l'économie dans un état d'immunité acquise plus ou moins complète et plus ou moins durable vis-à-vis d'une nouvelle infection, ce spectacle nous amène à

considérer la guérison comme une immunisation faite pendant la maladie.

On a pu se représenter la lente éclosion de cette immunité de façons bien diverses. Bien des théories de l'immunité ont été déjà proposées et d'autres encore sans doute verront le jour; mais il semble qu'aucune d'elles ne puisse être considérée comme applicable intégralement à toutes les maladies infectieuses indistinctement.

C'est de la recherche des causes de cette immunité que dérive toute la sérothérapie. Il ne faut pas oublier que si cette recherche a pu aboutir à un tel résultat, c'est que le traitement de la rage d'après Pasteur, les procédés de la vaccination contre diverses épizooties, le charbon entre autres, avaient déjà démontré l'efficacité de méthodes thérapeutiques utilisant des produits bactériens; c'est que les essais de Koch sur la tuberculine, essais trop injustement décriés aujourd'hui, avaient provoqué la recherche et l'étude méthodiques des toxines et des antitoxines spécifiques.

Dans l'étude des causes de l'immunité vis-à-vis du tétanos et de la diphtérie, à laquelle il s'était attaché, et particulièrement dans la recherche des propriétés du sérum sanguin d'animaux immunisés, Behring en était arrivé à expliquer

l'immunisation contre ces maladies par un des mécanismes suivants :

Ou bien, il y avait action directe bactéricide sur l'agent morbide;

Ou bien, il y avait une simple action d'arrêt sur le développement de cet agent, sans mort du microbe;

Ou bien encore, il y avait une action d'arrêt sur la propriété de sécréter des substances toxiques, sans arrêt de développement et sans mort du microbe:

Ou bien enfin, on pouvait supposer une action antitoxique consistant en la destruction ou la neutralisation des toxines dérivées du microbe.

Behring soumit à l'expérimentation chacune de ces hypothèses. En recherchant les causes de l'immunité naturelle ou artificielle contre la diphtérie, il ne trouva dans le sang pris aux animaux immunisés aucun indice d'une propriété spéciale capable d'arrêter le développement ou de diminuer la virulence des bactéries. Restait la dernière hypothèse, qui, après des recherches patientes et ardues, fut reconnue exacte. Ainsi se démontrait ce fait si intéressant que l'immunité des animaux contre la diphtérie est due à une propriété que leur sang acquiert par l'immunisation, propriété antitoxique, rendant la toxine diphtérique inoffensive.

Arriver à obtenir, par une série d'immunisations amenant une sorte d'*hyperimmunité*, un sérum contenant en proportion de plus en plus forte cette antitoxine qui donne cette propriété de lutter efficacement contre l'empoisonnement du bacille de Löffler, et faire ainsi de cette découverte scientifique pure une arme thérapeutique puissante et pratique, telle est l'œuvre à laquelle se sont alors attachés de nombreux savants. La part qui est due à chacun dans cette œuvre compliquée et difficile, a été exposée dans le livre de M. le Dr Funck, et nous n'avons pas à refaire ici cet historique, qui a été tracé en mettant impartialement à profit tous les travaux parus sur cette question.

La confiance avec laquelle le public médical a accueilli la nouvelle de la découverte de la sérothérapie antidiphtérique est-elle bien placée? N'avons-nous pas à craindre, après une première période d'enthousiasme, un revirement complet dans les opinions et n'assisterons-nous pas, après une sorte d'apothéose éphémère, à l'éclipse lamentable et à la disparition définitive de la méthode?

Telle qu'elle est, on ne saurait lui prédire sa destinée d'une façon absolue. Elle doit encore être soumise à l'expérimentation clinique de tous les jours et ce n'est pas en un an que les observations médicales se feront assez nombreuses et

assez précises pour que l'on puisse voir toutes les indications et les contre-indications du traitement, ses inconvénients et ses avantages.

Sans doute la méthode pourra encore subir des perfectionnements, aussi bien dans les procédés de conservation du sérum que dans les procédés d'obtention de la toxine diphtérique utilisée et dans les procédés d'immunisation; mais telle qu'elle est, la méthode est et reste expérimentalement et théoriquement inébranlable.

Si on a soin de ne pas demander à la sérothérapie anti-diphtérique plus qu'elle ne peut donner; si, se basant sur cette notion précise que le sérum de l'animal immunisé n'a d'autre propriété qu'une action spécifique sur le bacille de Löffler et ses produits, on comprendra qu'il reste impuissant vis-à-vis des lésions anatomiques marquées, telles que la néphrite, la myocardite et les névrites, qu'il n'ait qu'une valeur relative quand les fausses membranes sont étendues, qu'il ne mette pas le malade à l'abri des dangers physiques de l'asphyxie et qu'enfin il ne puisse exercer son action sur les bactéries qui s'associent à la diphtérie et en aggravent le pronostic.

L'intervention chirurgicale, l'application des moyens habituels, soit pour la désinfection directe, soit pour le traitement des complications ultimes, conserveront par conséquent toutes leurs

indications particulières. Nous avons enrichi notre arsenal thérapeutique d'une arme surtout puissante contre les phénomènes d'intoxication diphtérique.

Il faudra encore, si l'on ne veut courir à des déceptions, savoir manier cet arme nouvelle, comme toutes celles que nous manions, avec rapidité et avec méthode, et pour cela il suffira de se rendre un compte exact de sa puissance et de sa portée réelles.

C'est cette connaissance que la lecture de l'ouvrage de M. le Dr Funck donnera complète, nous n'en doutons pas. Élaboré avec le seul souci de l'exactitude scientifique, ce travail a été écrit pour ainsi dire sur la table du laboratoire et a le mérite des choses qui non seulement sont connues dans leur ensemble théorique, mais qui encore ont été vues et pratiquées journellement dans leurs moindres détails.

E. Destrée.

AVANT-PROPOS.

Le traitement spécifique de la diphtérie est une question à l'ordre du jour : nous assistons actuellement à la plus grande révolution thérapeutique dont l'histoire de la médecine fasse mention. Il y a à peine quatre ans, lorsque parut le premier travail de Behring sur les applications de la sérothérapie au traitement de certaines maladies infectieuses, on n'aurait évidemment pas pu prédire à cette nouvelle méthode un succès aussi complet et aussi rapide. Aujourd'hui, le monde scientifique de tous les pays s'occupe de cette question, étudie les perfectionnements à y apporter et les difficultés qui restent encore à vaincre.

Mieux que les statistiques les plus brillantes, mieux même que l'étude approfondie des résultats et des chiffres d'ensemble obtenus dans les services hospitaliers et mis en regard de la mortalité des années précédentes, la seule application d'une injection de sérum au malade faite dans des circonstances favorables, pourra convaincre

et éclairer ceux qui n'acceptent qu'avec une méfiance légitime les nouvelles méthodes en thérapeutique. La force de la sérothérapie, ce qui a fait son succès si rapide, c'est qu'elle repose uniquement sur l'expérimentation, « ce raisonnement à l'aide duquel nous soumettons méthodiquement nos idées à l'expérience des faits », a dit Claude Bernard. Toutes les conclusions pratiques que Behring avait tirées, il y a quatre ans, de ses premières expériences, ont pu paraître prématurées à cette époque, et cependant tout ce qu'il attendait de sa nouvelle méthode thérapeutique s'est réalisé aujourd'hui.

La bactériologie naissante avait tout d'abord expliqué la pathogénie des maladies infectieuses par la dissémination des bactéries dans l'organisme; mais on put bientôt se rendre compte que cette théorie ne pouvait trouver son application dans beaucoup de circonstances et qu'il existe des affections dans lesquelles l'agent microbien ne pénètre pas dans l'économie et reste localisé en un point superficiel du corps.

Déjà en 1884, Löffler avait trouvé que les accidents principaux de la diphtérie, ceux qui mettent le plus rapidement l'existence en danger, sont dus à l'intoxication, c'est-à-dire à l'empoisonnement de l'organisme par un agent chimique, sans participation directe du microbe,

qui reste localisé en un point spécial et ne pullule pas dans les organes.

Cette observation du savant allemand trouva une sanction expérimentale dans le beau travail de Roux et Yersin sur le poison diphtérique.

Ce qui se passe dans la diphtérie se passe également dans le tétanos.

La conséquence de ces constatations fut qu'il fallut créer une catégorie de maladies toxiques opposée au groupe des maladies où l'infection, c'est-à-dire le développement propre des bactéries, joue le rôle important.

Cette distinction entre deux groupes de maladies infectieuses ne peut évidemment être trop rigoureuse, car on rencontre un grand nombre d'affections occupant une place intermédiaire entre ces deux formes d'entités morbides.

Il s'agissait donc, cette pathogénie de la diphtérie étant démontrée et admise, de combattre autant que possible les effets du poison diphtérique, de la toxine répandue dans l'organisme : c'est le but auquel Behring tentait d'arriver par les applications pratiques de la sérothérapie.

L'action du sérum est avant tout dirigée contre les phénomènes généraux d'intoxication; son action locale est également reconnue, quoique fort peu élucidée actuellement. Certes, on ne doit pas s'attendre à guérir tous les malades aux-

quels le sérum est injecté ; mais on peut affirmer que toute angine diphtérique, toute affection croupale spécifique, prise au début de la maladie, avant que les complications graves mettent par elles-mêmes la vie en danger, sera influencée favorablement par l'emploi du sérum antitoxique. Personne, tant en France qu'en Allemagne, n'a contesté jusqu'ici les résultats obtenus; c'est la première fois peut-être qu'on peut constater, en médecine, une unanimité aussi complète dans l'appréciation favorable d'une nouvelle méthode thérapeutique, et c'est à peine si l'on a entendu une voix discordante, qui n'a eu d'ailleurs qu'un douloureux retentissement dans le monde scientifique de l'Allemagne (1).

La sérothérapie est entrée dès aujourd'hui dans le domaine de la médecine courante : il est donc d'un grand intérêt d'en vulgariser l'application, et nous avons cru faire œuvre utile en publiant ce manuel que nous nous sommes efforcé de rendre clair et pratique.

Après un aperçu général sur l'ensemble de nos connaissances actuelles en sérothérapie et sur

(1) Discours prononcé à la Société de médecine de Berlin par M. Hansemann, assistant de M. le professeur Virchow; dans ce discours, l'auteur a été jusqu'à nier le rôle étiologique du bacille de Löffler dans la diphtérie.

l'évolution de cette thérapeutique nouvelle, nous avons divisé ce travail en trois parties :

La PREMIÈRE PARTIE est consacrée à l'étude de la production du sérum antidiphtérique et comprend successivement la *fabrication du poison diphtérique*, l'*immunisation des animaux*, les *méthodes d'essai et de concentration du sérum*.

La SECONDE PARTIE comprend l'étude des applications du sérum dans la diphtérie expérimentale, la guérison de la diphtérie chez les animaux, l'étude expérimentale de l'infection mixte et les théories explicatives de l'action du sérum.

Enfin, la TROISIÈME PARTIE est relative aux applications du sérum aux malades; nous y passons successivement en revue l'étude pratique du diagnostic bactériologique et la recherche du bacille de Löffler, la technique et les doses des injections, les résultats obtenus jusqu'à la fin de 1894 et enfin l'application du sérum à la prophylaxie de la diphtérie, l'injection immunisante pour protéger contre la maladie.

Nous tenons à remercier M. le docteur H. Coppez, assistant à l'Institut ophtalmique de l'hôpital Saint-Jean, à Bruxelles, auquel nous devons les photographies qui aident à la compréhension de certains passages de ce livre, et qui a eu l'obligeance de nous donner les renseignements sur le traitement sérothérapique de la diphtérie ocu-

laire, chapitre nouveau et intéressant des applications thérapeutiques du sérum.

M. le professeur Destrée a bien voulu faire la préface de ce modeste travail : nous lui adressons nos sentiments de reconnaissance pour les précieux conseils qu'il nous a prodigués.

Que M. le docteur Wassermann, assistant à l'Institut pour l'étude des maladies infectieuses, à Berlin, qui n'a cessé pendant une année de nous faire profiter de ses connaissances sur l'immunisation et la sérothérapie, accepte l'hommage de gratitude que nous lui adressons en lui dédiant ce livre !

Bruxelles, janvier 1895.

INTRODUCTION.

L'ÉVOLUTION DE LA SÉROTHÉRAPIE.

Une découverte aussi importante et aussi compliquée que l'application du sérum d'animaux immunisés au traitement du tétanos et de la diphtérie, n'a pu être faite en un jour ni par un seul homme : elle est le résultat de l'effort continu des savants qui ont consacré leur temps à l'étude de l'immunité dans les maladies infectieuses.

En tête de l'histoire de la sérothérapie de la diphtérie, dont nous nous occuperons exclusivement dans ce modeste travail, deux noms doivent être inscrits : Behring et Roux. Les expériences de Behring sur l'immunisation contre le tétanos, d'une part, les travaux de Roux sur le poison de la diphtérie, d'autre part, ont permis à ces deux savants d'arriver presque en même temps à la solution du problème attendu depuis quelques années : l'injection de sérum aux enfants pour guérir la diphtérie ou le croup.

Premiers travaux.

L'idée de cette utilisation du sérum d'animaux réfractaires à une maladie pour en protéger ou en

guérir d'autres, est déjà ancienne : en 1877, Raynaud avait voulu démontrer l'action immunisante du sang de génisses atteintes de cowpox.

Plus tard, en 1884, Rondeau (1) injectait du sang de chien à des moutons, voulant transmettre à ceux-ci l'immunité naturelle du chien vis-à-vis du charbon.

Peu après vinrent les expériences de Héricourt et Richet (2), qui, en octobre 1888, ont publié à la Société de biologie leurs premiers résultats sur la transfusion péritonéale du sang de chien immunisé contre le staphylocoque pyoseptique aux lapins, pour les protéger contre l'infection par cette bactérie.

Ils entreprirent ensuite des expériences sur la transfusion dans la tuberculose, lorsqu'à la fin de 1890 parut le travail de Behring et Kitasato (3) sur le tétanos.

Travail de Behring et Kitasato.

Dans ce mémoire, où se trouvent exposées les bases de la sérothérapie, les auteurs arrivent aux conclusions suivantes :

(1) Rondeau, *Comptes rendus de la Société de biologie*, 22 novembre 1890.

(2) Héricourt et Richet, *Sur un microbe pyogène et septique* (staphyl. pyoseptic.) *et sur la vaccination contre ses effets*. (Comptes rendus de la Soc. biol., 1888, p. 690.)

(3) Behring et Kitasato, *Ueber das Zustandekommen der Diphtherie-Immunität und der Tetanus-Immunität bei Thieren*. (Deutsche med. Wochenschr., 1890, nº 49.)

1) Les animaux vaccinés contre le bacille du tétanos le sont également contre le poison tétanique;

2) Le sérum d'un animal vacciné mélangé dans un tube à réactif au poison tétanique le neutralise et le rend inactif;

3) Le sérum d'un animal vacciné possède cette propriété, non seulement *in vitro*, mais également s'il est introduit dans l'organisme avant l'intoxication.

Il protège contre l'infection par le bacille vivant et contre l'intoxication par le poison tétanique, sans bactéries. Enfin il possède la propriété de guérir également un animal malade, manifestant déjà les premiers symptômes du tétanos.

Au début, cette découverte magnifique fut en butte aux contradictions et aux objections les plus nombreuses. Spécialement les propriétés thérapeutiques du sérum furent mises en doute dans la plupart des travaux, lorsque parurent des observations de malades atteints de tétanos et guéris par le sérum.

Les travaux de Kitasato [1], de Roux et Vaillard [2]

[1] KITASATO, *Experim. Unters. über das Tetanusgift.* (Zeitschr. f. Hyg., 1891, Bd X.).

[2] ROUX et VAILLARD, *Contribution à l'étude du tétanos.* (Ann. de l'Inst. Pasteur, 1893.)

La sérothérapie du tétanos.

vinrent préciser les conditions d'emploi du sérum dans le tétanos chez l'homme. On se rendit compte que l'immunité devait encore être élevée, c'est-à-dire que le sérum devait être plus concentré pour être actif et que son application devait avoir lieu dès l'apparition des premiers symptômes de cette terrible affection. Après la publication de ces travaux, on a vu relater de plusieurs côtés des cas de tétanos guéris par l'antitoxine.

Malheureusement, on peut affirmer d'une façon générale que le tétanos, chez l'homme, est une maladie à cours trop rapide pour pouvoir espérer la guérir aussi efficacement que la diphtérie ou toute autre affection semblable, dont l'évolution est moins brusque et qui permet à l'influence du sérum antitoxique de se faire sentir avant que les phénomènes graves se soient produits.

Immunisation antitétanique.

Quoi qu'il en soit, c'est grâce aux travaux sur la sérothérapie du tétanos qu'on est arrivé à perfectionner les méthodes d'immunisation et à produire les toxines, les poisons microbiens qui servent à rendre les animaux réfractaires. Le traitement que l'on doit faire subir aux chevaux, pour obtenir un sérum antitétanique, est beaucoup moins délicat et beaucoup plus théoriquement établi que celui que nous employons pour

obtenir un sérum antidiphtérique. Déjà la production du poison diffère essentiellement dans les deux affections : dans le tétanos, la production du poison par les bactéries (fonction toxique) est beaucoup plus constante et ne demande pas à être conduite avec les précautions et les détails infinis de préparation que nécessite l'obtention du poison diphtérique.

Dans l'immunisation antitétanique, il y a une difficulté principale : c'est le début du traitement; Behring a dit, à ce propos, que celui qui a trouvé la dose exacte de poison avec laquelle il peut débuter dans l'immunisation d'un animal, est certain d'arriver au but. Il en est tout autrement dans la diphtérie : le poison sécrété par l'agent étiologique de cette maladie est beaucoup moins nocif pour la plupart des animaux, et la difficulté n'est plus ici d'éviter la sensibilité de l'organisme animal au poison, mais bien de maintenir cette sensibilité, c'est-à-dire d'obtenir et surtout de conserver pendant toute la durée de l'immunisation un poison suffisamment toxique et concentré pour que son introduction dans l'organisme produise toujours une réaction qui puisse être suivie de la formation des antitoxines spécifiques.

Pour comprendre ce mécanisme de la formation de l'antitoxine, nous devons rappeler ici

divers mémoires d'Ehrlich. Ces intéressants travaux (1) ont signalé depuis longtemps la différence essentielle qui existe entre l'immunité active et l'immunité passive. Ehrlich appelle IMMUNITÉ ACTIVE, l'immunité qui a pour but la production d'antitoxines dans le sang d'un aniaml au moyen des injections de poison ou de toxine. Il y a donc ici une *formation active* de contre-poison qui traduit la résistance de l'organisme intoxiqué.

Immunisation active et passive.

A côté de cela, si on injecte le sérum contenant l'antitoxine à un animal neuf, on le rend capable de résister également, mais sans amener de réaction cellulaire spéciale; en un mot, l'organisme reste passif: c'est ce qu'Erhlich a appelé l'IMMUNITÉ PASSIVE. Cette immunité est tout à fait passagère, puisque, l'antitoxine s'éliminant bientôt et l'organisme n'en produisant pas par lui-même, l'animal perd le moyen de résistance qui lui avait été momentanément fourni. Si nous essayons de nous rendre compte synthétiquement de la valeur de l'immunisation active, nous devons considérer dans celle-ci deux phases : l'immunisation contre les bactéries vivantes et l'immunisation contre les poisons bactériens. La

(1) EHRLICH, *Experimentelle Untersuch. über Immunität.* (Deutsche med. Wochenschr., 1891, nos 32 et 44.) — ID., *Ueber Immunität durch Vererbung und Säugung.* (Zeitschr. f. Hyg., 1892, Bd XII.)

résistance aux bactéries vivantes peut être obtenue par d'autres moyens que l'immunisation active proprement dite; parmi ces moyens, nous devons signaler l'injection préliminaire de liquides non spécifiques, indifférents, tels que le bouillon, une solution de sel, etc. : c'est alors une résistance passagère qui semble due à une augmentation de la phagocytose (Issaeff) (1). La résistance aux bactéries vivantes peut être également durable; c'est la véritable immunisation active : on arrive à faire résister l'animal un grand nombre de fois à la dose mortelle, et pendant un temps plus ou moins long.

Cette immunisation est spécifique pour chaque espèce bactérienne, et le sérum des animaux traités montre des propriétés bactéricides spécifiques (Pfeiffer) (2). A côté de l'immunité contre les bactéries, nous avons considéré l'immunité vis-à-vis des poisons bactériens : c'est grâce à la fonction antitoxique que les animaux résistent aux poisons aussi bien qu'aux bactéries vivantes; elle n'est démontrée jusqu'ici que pour le tétanos et pour la diphtérie. L'avenir nous montrera si

(1) Issaeff, *Unters. über die künstl. Immunität gegen Cholera.* (Zeitschr. f. Hyg., 1893, Bd XVI.)

(2) Pfeiffer und Issaeff, *Ueber die specifische Bedeutung der Cholera-Immunität.* (Zeitschr. f. Hyg., Bd XVII.)

l'immunité dans d'autres maladies infectieuses, telles que la fièvre typhoïde et le choléra, peut être élevée chez les grands animaux à un point suffisant pour que leur sérum possède des qualités antitoxiques assez énergiques pour servir au traitement spécifique de ces affections chez l'homme.

PREMIÈRE PARTIE.

La préparation du sérum antidiphtérique.

Le sérum antidiphtérique est obtenu en saignant dans la veine jugulaire de grands animaux immunisés contre la diphtérie. Les espèces le plus généralement employées sont les chèvres, les vaches et surtout les chevaux ; on leur inocule des doses croissantes de toxine diphtérique. Cette immunisation nécessite un temps assez long, plusieurs mois, et des manipulations nombreuses et compliquées que nous allons étudier en détail, ce qui nous obligera à diviser cette partie du manuel en quatre chapitres, qui comprendront successivement : 1° la préparation du poison ou toxine diphtérique ; 2° la technique de l'immunisation elle-même ; 3° les méthodes d'essai de la valeur antitoxique du sérum, et enfin 4° les méthodes de concentration du sérum et l'extraction de l'antitoxine du lait des animaux rendus réfractaires.

CHAPITRE PREMIER.

—

LA PRÉPARATION DU POISON DIPHTÉRIQUE.

Découvert et étudié, pour la première fois, par Roux et Yersin, le poison de la diphtérie a été de la part de ces savants le sujet d'une série de travaux qui sont considérés, aujourd'hui encore, et à juste titre, comme le mémoire le plus complet qui ait paru en bactériologie.

La toxine diphtérique est contenue dans les cultures du bacille de Löffler, déposées à l'étuve à 37° pendant un temps variant de trois à six semaines.

Au cours de leurs expériences sur ce sujet, Roux et Yersin (1) avaient observé que si l'on filtrait à la bougie Chamberland de vieilles cultures diphtériques, on obtenait un liquide très toxique, reproduisant chez les animaux auxquels il était injecté, les symptômes les plus caractéristiques de la maladie. Ils confirmaient par ce fait la

(1) Roux et Yersin, *Contributions à l'étude de la diphtérie.* (Annales de l'Institut Pasteur, 1888, 1889, 1890.)

théorie de Löffler qui avait annoncé longtemps auparavant, mais sans le démontrer, que le bacille diphtérique agissait surtout par les poisons qu'il produit sans se multiplier lui-même dans l'organisme ([1]).

La préparation d'une toxine diphtérique active est une opération délicate et qui demande les plus grands soins.

D'après ce que nous avons pu observer nous-même en cultivant des bactéries d'origines très diverses, nous pensons pouvoir faire dépendre la production du poison dans les cultures de diphtérie de trois conditions principales, dont la réunion donnerait un maximum de pouvoir toxique; ces conditions sont les suivantes :

1° L'emploi de cultures très virulentes ;

2° L'alcalinisation exacte des bouillons ;

3° L'aération des ballons par un courant d'air humide.

I. *Emploi de cultures très virulentes.* — Pour préparer une toxine active, il est nécessaire, avant tout, de posséder une culture virulente de diphtérie.

Cultures virulentes.

Les bactéries telles qu'on les obtient en général

([1]) Löffler, *Der gegenwärtige Stand der Frage nach der Entstehung der Diphterie.* (Deutsche medic. Woch., 1889, nos 5 et 6.)

de la gorge des malades n'offrent pas une virulence suffisante pour qu'on puisse en attendre une production abondante de toxine, dans les conditions de culture ordinaire, même au bout de plusieurs semaines de séjour à l'étuve à 37°.

Passages par les cobayes.

Il s'agit par conséquent d'exalter leur virulence : on arrive à ce but le plus rapidement et le plus sûrement en faisant des passages à travers l'organisme des cobayes. La culture dont nous nous servons actuellement tue un cobaye de poids moyen à la dose de *1 milligramme* de bouillon de vingt-quatre heures injecté sous la peau du dos, comme le démontre le tableau suivant :

Passage.	Cobaye.	gr.	Dose injectée	Suites.
1er	I.	300	Inject. de 0.1 de cult. dipht.	† en 24 h.
2e	II.	274	— 0.05 —	† en 24 h.
3e	III.	309	— 0.01 —	† en 36 h. (pèse 259 gr.)
4e	IV.	345	— 0.005 —	† 2 jours. (pèse 293 gr.)
5e	V.	276	— 0.001 —	† 3 jours. (pèse 241 gr.)

En se servant de cultures aussi virulentes que celle qui a tué le cobaye V, on est presque certain d'arriver déjà au bout d'un mois, quelquefois de trois semaines, à une production abondante de toxine.

II. *Alcalinisation exacte des bouillons.* — La seconde condition, presque la plus importante, c'est l'alcalinisation exacte du milieu de culture. On ensemence les ballons contenant le bouillon peptonisé ordinaire, mais alcalinisé, jusqu'à ce qu'il ne rougisse plus le papier bleu de tournesol. Alcalinisation du bouillon.

Schloffer [1] et Boer [2] ont observé que le bacille de Löffler ne supporte pas l'addition au milieu de culture de plus de 42 c. c. d'acide chlorhydrique normal par litre ou de 88 c. c. de solution normale de soude. Behring et Boer ont recommandé l'emploi d'un bouillon additionné de 6 à 8 c. c. de solution normale de soude par litre de bouillon. Dans nos expériences, nous en ajoutons généralement davantage : de 11 à 12 c.c.

III. *Aération des ballons.* — Roux et Yersin avaient remarqué, au cours de leurs études sur le poison diphtérique, que ce dernier était plus abondant et se produisait d'une manière plus régulière si les cultures étaient faites avec un accès facile de l'air. Roux a employé à cet effet des ballons à tubulure latérale, mis en communication avec une trombe à faire le vide. Aération des ballons.

(1) Schloffer, *Centralblatt für Bakteriol.* (Bd XIV, nº 20.)

(2) Boer, *Ueber die Leistungsfähigkeit mehrerer chem. Desinfectionsmitteln.* (Zeitschr. für Hyg., 1890.)

L'air qui passe par les ballons est privé de germes en lui faisant traverser de l'ouate stérilisée, et barbote dans un flacon laveur qui le sature d'humidité et assure ainsi une action plus efficace sur le milieu de culture.

Les vases employés par Roux sont les vases dits de Fernbach, à tubulure latérale ; l'air étant aspiré directement du goulot du flacon dans la tubulure latérale, n'a pas un maximum d'effet sur la surface du bouillon de culture.

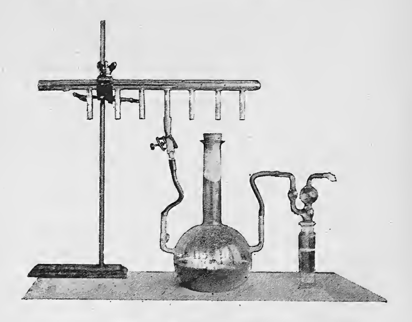


Fig 1. — Dispositif pour faire passer un courant d'air à la surface du bouillon de culture.

Dispositif du courant d'air.

Voici le dispositif que nous employons pour parer à cet inconvénient : nous avons fait souder à la partie latérale et moyenne de ballons ordinaires, de chaque côté, une tubulure en verre, recourbée à angle droit et bourrée d'ouate stérilisée. Nous remplissons le ballon de bouillon jusqu'à environ 1 c. au-dessous des tubulures ; nous ensemençons avec la culture virulente et nous relions le ballon à un tube aspirateur à huit branches, mis en communication avec une trombe à faire le vide. Dans le goulot du ballon, au-dessus du bouchon d'ouate ordinaire, qui est repoussé dans le goulot du ballon, nous introduisons un bouchon de caoutchouc, pour forcer l'air à passer d'une tubulure dans l'autre et, par conséquent, tout à fait à la surface du bouillon. Ainsi s'augmentent les oxydations nécessaires à la formation de la toxine, et déjà au bout de deux semaines, on constate souvent une production toxique très avancée. Chaque ballon est en rapport direct avec un petit flacon laveur, qui sature l'air de vapeur d'eau, le débarrasse d'une partie de ses impuretés et surtout permet de se rendre un compte exact de la rapidité du courant d'air et de régler celui-ci à volonté au moyen d'une pince de Mohr, adaptée entre le ballon et le tube aspirateur à huit branches.

Grâce à ce dispositif, en somme très simple et qui ne nécessite que l'emploi d'une étuve à tem-

pérature constante de dimensions assez grandes, si l'on n'a pas à sa disposition une chambre-étuve comme celle qui existe dans la plupart des instituts de bactériologie, on arrive à obtenir, déjà au bout de peu de jours, une pellicule blanchâtre, écailleuse et abondante, qui se forme à la surface de la culture, tandis qu'au fond se dépose petit à petit un sédiment également blanchâtre, qui devient abondant au bout de deux semaines et est constitué par les corps bactériens eux-mêmes. Le liquide intermédiaire, trouble au début, devient de plus en plus clair.

Lorsque le poison est formé, au bout d'un temps variable, le milieu présente une réaction très nettement alcaline. On tue les bactéries par l'addition de 0,5 °/₀ de phénol ou de 0,3 °/₀ de tricrésol, ou bien on filtre simplement à la bougie de porcelaine, pour priver le liquide de tout germe vivant. Une fois préparé, le poison doit être conservé dans un endroit frais et *à l'abri de la lumière* : celle-ci le modifie très rapidement.

Altérations du poison.

On a étudié avec soin les altérations que subit le poison au contact de différents corps chimiques; nous savons qu'il est très instable et très rapidement décomposé par la chaleur; chauffé à 100° pendant dix minutes, Roux et Yersin l'ont trouvé détruit. Cependant Behring [1] a insisté sur ce

[1] BEHRING, *Bekämpfung der Infectionskrankheiten.* (Infection und Desinfection. Leipzig, 1894.)

fait, que même après l'action prolongée de la chaleur (100° pendant une demi-heure), le poison, quoique rendu inoffensif pour les cobayes, exerce encore une action toxique très manifeste sur les chèvres et sur les chevaux, espèces animales plus sensibles que les cobayes à l'action de la toxine diphtérique. Il n'y aurait donc pas destruction totale, mais simplement affaiblissement considérable du pouvoir toxique.

Pour se rendre compte de la nature chimique du poison, on a essayé de cultiver le bacille de Löffler sur des milieux non albuminoïdes, de composition chimique bien définie et qui auraient permis une analyse plus exacte des produits formés par les bactéries dans la culture. Milieux non albuminoïdes.

C. Fränkel [1] a essayé l'emploi de cette méthode, qui ne lui a donné aucun résultat pour la diphtérie, tandis que le bacille tuberculeux et le bacille de la morve produisaient des toxines abondantes. Il faut tenir compte de l'expérience de Guinochet [2], qui a cultivé ce bacille dans de l'urine normale, non albumineuse, et aurait retrouvé les

[1] C. Fränkel, *Beiträge für Kenntniss des Bakterienwachsthums auf eiweissfreien Nährlösungen.* (Hyg. Rundschau, 1894, n° 17.)

[2] Guinochet, *Contribution à l'étude de la toxine du bacille de la diphtérie.* (Archives de méd. expérim., t. IV, 1892.)

propriétés toxiques spécifiques du poison diphtérique après un certain temps de séjour à l'étuve à 37°.

Valeur toxique du poison.

Avant d'injecter le poison aux animaux pour l'immunisation, il importe de se rendre un compte exact de la valeur toxique du liquide qu'on va employer : on l'injecte à doses différentes sous la peau du dos à une série de cobayes ; pour être utilisable, la toxine doit tuer un cobaye de 250 grammes à la dose de 0gr,10 en quarante-huit heures. C'est le *poison normal*, le poison-étalon de Behring. Il y a un grand avantage, au cours de l'immunisation, à ne se servir que d'un liquide toujours équivalent au point de vue de sa toxicité.

Égalisation du poison d'après Ehrlich.

Ehrlich a appelé *égalisation du poison* une opération qui consiste à obtenir une solution de toxicité constante. A cet effet, on prépare une solution *normale* de sérum ; ce sérum, à la dose de 0gr,10, neutralise exactement dix fois la dose mortelle du poison-étalon, lorsque le poison et la solution d'antitoxine sont mis en contact direct dans le tube à réaction et injectés de cette façon au cobaye. Ce mélange doit être *sans action aucune* sur l'animal, qui ne peut présenter aucun symptôme morbide, ni local ni général, à la suite de l'injection. On se trouve amené ainsi dans un cercle vicieux, qui offre toutes les

garanties d'exactitude pour un dosage exact : d'un côté l'antitoxine normale neutralisant dix fois la dose mortelle de poison normal et, de l'autre, le poison normal étant exactement neutralisé par l'antitoxine normale. Si le poison obtenu dans une culture est plus toxique que le poison normal [1], ce qui arrive souvent, il est nécessaire d'en tenir soigneusement compte pour éviter les sauts brusques et imprévus dans l'immunisation, qui pourraient mettre la vie des animaux en danger.

Toxines et antitoxines.

A côté de l'action des corps chimiques sur le poison diphtérique, on connaît l'influence de substances dont la nature nous est peu connue, et qui sont produites dans l'organisme vivant : ce sont les antitoxines, qui ont la propriété de rendre le poison tout à fait inoffensif. Ces substances antitoxiques se retrouvent dans le sang, dans le lait et même dans l'urine des animaux immunisés : l'immunisation a donc pour but d'accumuler ces substances en grande quantité dans les liquides de l'organisme, et l'on arrive à ce but par

[1] La toxine employée actuellement pour l'immunisation par Libbertz, à Höchst-sur-le-Mein, où se produisent les grandes quantités de sérum vendues dans toute l'Allemagne, équivaut à vingt fois la toxine normale, c'est-à-dire qu'elle tue à la dose de 0gr,005 un cobaye ordinaire.

les injections répétées et à doses croissantes du poison, de la toxine diphtérique. L'étude des méthodes d'immunisation formera le sujet du chapitre suivant.

CHAPITRE II.

LES MÉTHODES D'IMMUNISATION.

La réaction antitoxique.

Si l'on introduit dans un organisme une certaine quantité de poison diphtérique, en injections sous-cutanées par exemple, on voit se produire des phénomènes fort différents selon la sensibilité de l'espèce animale sur laquelle on expérimente. Une espèce insensible ou peu sensible à la toxine diphtérique, telle que la souris, ne réagira pas à l'infection ; on pourra cependant retrouver dans son sang, comme Behring l'a maintes fois démontré, une quantité très notable de poison, suffisante même pour provoquer la mort d'autres animaux, d'espèce plus sensible. Un phénomène tout différent s'observe lorsqu'on injecte une espèce sensible à la toxine : l'animal réagira à la suite de l'injection et cette réaction se traduira par une augmentation de température, par un état de maladie plus ou moins apparent, et surtout, chose qui nous intéresse au plus haut

point, par une modification spéciale du sang, qui, après l'expérience, renfermera un corps nouveau : *l'antitoxine* du poison diphtérique. C'est cette antitoxine, corps de composition chimique encore inconnue, que nous cherchons à produire en grande quantité dans le sang des animaux que nous immunisons.

Il est difficile de donner un aperçu schématique, une règle générale qui présiderait aux problèmes si divers et si compliqués de l'immunisation des grands animaux destinés à fournir le sérum thérapeutique.

Nous croyons néanmoins utile d'entrer dans quelques considérations détaillées à ce sujet et d'examiner brièvement les méthodes d'immunisation proposées jusqu'ici.

Méthode de Behring.

La méthode employée par Behring [1] lors de ses premiers travaux sur la sérothérapie reposait sur le principe de l'affaiblissement des cultures par le trichlorure d'iode : il injectait des doses de plus en plus grandes de ces cultures et contenant de moins en moins de trichlorure d'iode : il arrivait de cette façon à obtenir en peu de temps ce qu'il appelait la *base d'immunité* (Grundimmunität). Cette première étape de l'immuni-

[1] BEHRING, *Untersuchungen über das Zustandekommen der Diphtherie-Immunität bei Thieren.* (DEUTSCHE MED. WOCHENSCHR., 1890, nº 50.)

sation franchie, il inoculait des doses régulièrement croissantes et élevait petit à petit le degré de la résistance organique. Les dosages quantitatifs des injections et les intervalles qui séparaient celles-ci, étaient calculés d'après l'intensité et la durée de la dernière réaction : on n'augmentait les doses que lorsque l'injection précédente avait été supportée pour ainsi dire sans réaction. Behring n'attribuait du reste aucune importance à cette « base d'immunité » et à la façon dont elle était produite.

Méthode de C. Fränkel.

C. Fränkel (1) a publié, vers la même époque, des travaux intéressants sur l'immunisation contre la diphtérie. L'expérimentateur débutait par l'emploi de cultures âgées d'environ trois semaines et chauffées à 70°.

Cette température devait enlever, d'après la théorie de l'auteur, la plus grande partie du pouvoir toxique de la culture, mais en lui laissant toutes ses qualités vaccinantes. Par ce procédé, il obtenait l'immunité au bout de deux semaines chez les cobayes. Peu de temps avant la publication de ces travaux, Ferran, de Barcelone, avait également fait des essais d'immunisation sur les cobayes pour les protéger contre la diphtérie.

(1) FRÄNKEL, *Immunisirungsversuche bei Diphtherie.* (BERLIN. KLIN. WOCH., 1890, n° 49.)

Brieger, Kitasato et Wassermann [1] adaptèrent dans le même but les résultats de leurs recherches sur les cultures faites sur les extraits de thymus, et cherchèrent à appliquer cette façon d'atténuer les bacilles à l'inoculation des cobayes, pour leur donner plus de résistance contre la diphtérie. Ces auteurs ont combiné ce mode de culture, qui affaiblissait notamment la virulence des bactéries, au procédé de C. Fränkel, c'est-à-dire à l'emploi de la chaleur pendant quinze minutes jusqu'à 70°.

Les injections de toxine.

Ces différentes méthodes, employées il y a quelques années, sont définitivement abandonnées aujourd'hui. Les applications du sérum à la thérapeutique de la diphtérie ont nécessité l'emploi de grands animaux, pouvant donner une quantité suffisante de sang et, actuellement, les procédés expérimentés, tant à Paris qu'à Berlin, sont uniquement basés sur l'injection de la *toxine* diphtérique, et non du *bacille* plus ou moins atténué, ce système étant reconnu le plus sûr et le plus facile.

Nous avons parlé plus haut du procédé d'*égalisation* du poison, expérimenté par Ehrlich, et

[1] BRIEGER, KITASATO et WASSERMANN, *Ueber Immunität und Giftfestigung*. (ZEITSCHRIFT F. HYGIENE, Bd XII, 1892.)

qui rend les plus grands services au cours de l'immunisation en permettant d'éviter les sauts brusques dans l'administration de la toxine : c'est une méthode tout à fait précise, exempte de causes d'erreurs, presque mathématique.

Il ne nous appartient pas de juger les deux méthodes que nous allons maintenant décrire brièvement et que pratiquement on peut seules appliquer pour obtenir un maximum d'effet antitoxique. Il nous faut cependant faire remarquer qu'elles reposent chacune sur un principe assez différent et que le seul moyen de les comparer serait d'évaluer exactement la valeur antitoxique du sérum qu'on obtient au moyen de l'une ou de l'autre. Malheureusement, comme nous le verrons au chapitre suivant, les méthodes d'essai du sérum sont différentes en France et en Allemagne, si différentes même qu'elles ne permettent aucune comparaison.

Méthode de Roux.

La première méthode est celle qui a été décrite par Roux au Congrès de Budapest; la seconde est employée en Allemagne et appartient à Ehrlich et Wassermann.

L'avenir nous démontrera lequel de ces deux procédés est le plus pratique et, surtout, lequel fournira le sérum le plus antitoxique.

Méthode de Roux [1]. — Le procédé que Roux emploie à l'Institut Pasteur et qu'il a décrit au Congrès de Budapest, ne diffère guère de la méthode première de Behring; au lieu d'utiliser le trichlorure d'iode, il neutralise partiellement le poison au début du traitement par la liqueur de Gram, ainsi que l'avaient déjà recommandé Roux et Vaillard dans leurs expériences sur le tétanos. « La toxine diphtérique additionnée » d'iode est beaucoup moins dangereuse que la » toxine pure. On ajoute à la toxine un tiers de » son volume de liqueur de Gram, au moment » même de l'employer, et après quelques instants, » on injecte le mélange sous la peau. Un lapin » de moyenne taille supporte d'emblée $^1/_2$ c. c. » de ce liquide; au bout de quelques jours, on » renouvelle l'injection et on continue ainsi pen» dant quelques semaines; alors on peut aug» menter les doses de toxine iodée ou diminuer » la proportion d'iode. Plus tard, on donnera la » toxine pure. »

Pour immuniser les chevaux, Roux leur a injecté sous la peau de l'encolure, en arrière de l'épaule, des doses graduellement croissantes d'une toxine tuant en quarante-huit heures un

(1) Roux, *Contribution à l'étude de la sérumthérapie dans la diphtérie.* (Congrès de Budapest, 1894.)

cobaye de 500 grammes à la dose de 10 centigrammes.

En deux mois et vingt jours, un des chevaux a reçu plus de 800 c. c. de toxine sans avoir présenté autre chose qu'un œdème local passager et une augmentation de température d'un degré environ le soir des jours où l'injection a été copieuse.

Méthode de Ehrlich et Wassermann.

Méthode de Ehrlich-Wassermann [1]. — Au milieu de l'année 1892, Ehrlich et Wassermann ont commencé une série de recherches sur l'immunisation des chèvres contre la diphtérie. Cette espèce animale leur a semblé tout particulièrement indiquée pour ce genre d'études, d'abord à cause de la production régulière du lait, qui permettait d'obtenir de notables quantités d'antitoxine, grâce aux méthodes d'extraction que nous verrons plus loin, ensuite à cause de la résistance spéciale de ces animaux : cette résistance permet d'atteindre rapidement un degré élevé dans l'échelle de l'immunité, malgré une sensibilité extrême aux poisons bactériens en général et à la toxine diphtérique en particulier. Après un certain nombre d'essais, les savants de Berlin ont pu conclure de leurs travaux que les chèvres

[1] EHRLICH et WASSERMANN, *Ueber die Gewinnung der Diphtherie-Antitoxine*. (ZEITSCHR. F. HYGIENE, 1894.)

peuvent être facilement protégées contre la diphtérie, que les corps antitoxiques du sang passent dans le lait en quantité très notable et que cette quantité augmente avec le degré de l'immunité.

Ehrlich et Wassermann s'étaient servis, pour le début de l'immunisation dans leurs expériences, de cultures stérilisées, puis de cultures vivantes, d'un âge progressivement croissant, variant de trois à quarante jours. Ils se sont bientôt rendu compte que l'immunisation dépend, non pas de la virulence des cultures employées, mais de leur toxicité, c'est-à-dire de la quantité de poison qu'elles renferment. Dès lors, ils modifièrent leur procédé primitif, l'immunisation au moyen des cultures vivantes étant trop incertaine et sujette à des variations souvent dangereuses pour les animaux en expérience. Ils n'employèrent plus que le poison pur, préparé comme nous l'avons vu déjà, et injecté à doses croissantes en commençant très prudemment. Du reste, le début de l'immunisation et la façon de procéder pour obtenir la base d'immunité, dont nous parlions plus haut, sont sans importance.

L'emploi de la toxine.

On sait aujourd'hui que les substances toxiques et immunisantes qu'on avait essayé de déceler et de séparer dans les cultures diphtériques n'exis-

tent pas : il existe un seul et même corps, la toxine du bacille de Löffler, dont la nature chimique reste indéterminée, toxine qui pour certains organismes est un corps toxique et pour d'autres un corps immunisant.

La difficulté qu'on éprouve au début de l'immunisation contre le tétanos et qui consiste à pouvoir injecter des doses assez petites de toxine pour ne pas voir succomber l'animal, n'existe pas pour la diphtérie. Dans le tétanos, on doit donc employer des substances possédant la propriété de neutraliser jusqu'à un certain point, d'atténuer tout au moins le poison ; ces substances sont très diverses : nous avons cité le trichlorure d'iode, la liqueur de Gram, la chaleur, etc. Vis-à-vis de la toxine diphtérique, les animaux employés jusqu'ici sont loin de présenter un degré aussi extrême de sensibilité que vis-à-vis de la toxine tétanique. Il suffira de commencer l'immunisation prudemment, au moyen de poison dilué tout simplement dans de l'eau stérilisée, et d'augmenter graduellement jusqu'à ce qu'on obtienne une réaction : nous avons pu, de cette façon, commencer par 5 centigrammes dilués dans 2 c. c. d'eau et obtenir déjà à 10 centigrammes une réaction fébrile typique chez le cheval.

L'intérêt qui s'attache à la méthode employée

par Ehrlich et Wassermann est évident. Les savants berlinois partent d'un principe assez différent de ceux qui ont guidé jusqu'ici les recherches sur l'immunité.

Différences entre les deux méthodes.

Tandis que la plupart des procédés d'immunisation publiés jusqu'ici reposent sur l'injection de doses *lentement progressives* du poison, amenant de petites réactions tous les deux à trois jours, évitant même ces réactions le plus possible, la méthode nouvelle consiste à faire les injections à grands intervalles et à fortes doses, de façon à obtenir après chaque opération une *réaction très violente* de l'organisme. On comprend que cette manière de procéder augmente notablement les dangers et les difficultés de l'immunisation.

Mais la valeur antitoxique du sérum obtenu augmente ainsi très rapidement et permet l'administration de doses relativement minimes, ne dépassant pas 10 c. c., dans le traitement de la diphtérie chez l'enfant.

Les expériences si intéressantes de Roux et Vaillard ont démontré qu'il n'y a pas de proportionnalité entre la quantité de toxine injectée et l'antitoxine produite : avec une même quantité de toxine, on peut obtenir des effets tout à fait différents, selon la manière dont cette toxine est injectée. Dans la méthode que nous décrivons,

on ne s'occupe pas de l'immunité; au contraire, on l'évite, parce que le jour où le poison n'est plus capable d'amener une *réaction*, la production active d'antitoxine cesse.

Comme on peut le voir dans le tracé ci-joint, la méthode que nous avons suivie au cours de l'immunisation, nous a permis d'obtenir à la suite de chaque injection une fièvre très violente, une réaction intense de tout l'organisme, et la valeur antitoxique du sérum s'est élevée très rapidement.

Les réactions spécifiques.

Pour évaluer la dose à injecter, on se base sur la réaction amenée par la dernière injection; cette réaction est locale et générale; la réaction locale se traduit par un œdème de volume variable, persistant pendant un temps plus ou moins long, quelquefois des semaines entières; la réaction générale se mesure surtout par l'élévation de la température, qui est prise régulièrement, au moins deux fois par jour, matin et soir, par l'amaigrissement et un abaissement de poids assez constants, par la diminution de l'appétit, etc.

Lorsque l'animal est producteur de lait, comme la chèvre, on a un moyen facile de se rendre compte de la quantité toujours croissante d'antitoxine, puisqu'on peut, dans le lait, évaluer celle-ci déjà au bout de deux jours et qu'elle suit le plus souvent une marche ascendante et parallèle à la valeur antitoxique du sang.

Fig. 2. — Tracé de la température au cours de l'immunisation chez un cheval, deux mois après le début des expériences.

Technique des injections.

La technique des injections qu'on pratique aux chevaux n'offre rien de spécial; les seringues seront pourvues d'un ajutage en caoutchouc pour éviter que les mouvements brusques de l'animal ne brisent la canule, ce qui arrive facilement quand celle-ci fait corps avec la seringue: nous nous servons habituellement de seringues à piston d'amiante, qui offrent toutes les garanties d'asepsie la plus parfaite et sont pourvues d'un petit ajutage de caoutchouc à l'extrémité duquel se fixe l'aiguille. De cette façon, on n'a à craindre aucun accident pendant l'injection. Les chevaux s'habituent du reste très vite aux inoculations et les supportent très docilement.

L'expérience a démontré que toute injection un peu considérable de poison diphtérique, diminue le pouvoir antitoxique du sang pendant quelques jours.

Il n'y a donc rien d'étonnant à ce qu'une saignée pratiquée le lendemain d'une inoculation de toxine ne donne qu'un sérum absolument faible, et même totalement dépourvu de propriétés antitoxiques. Il n'est donc pas nécessaire d'invoquer « *une suspension passagère du pouvoir immunisant du sérum* » dans ces conditions [1]. C'est un phé-

Variations dans la valeur antitoxique du sérum.

[1] BARDACH, *Études sur la diphtérie.* (ANN. DE L'INSTITUT PASTEUR, 1895, n° 1.)

nomène banal, commun à toutes les maladies infectieuses et qui se retrouve dans les expériences sur l'immunité vis-à-vis de la fièvre typhoïde ou du choléra, aussi bien que dans la diphtérie.

Après quelques jours, la quantité d'antitoxine augmente au contraire très rapidement : il est donc nécessaire, lorsqu'on veut faire un essai de la valeur antitoxique du sang, ou pratiquer la saignée définitive pour l'obtention du sérum, d'attendre au moins huit à dix jours après la dernière injection.

Le degré de l'immunité qu'on a atteint s'abaisse aussi très rapidement et les injections de poison doivent être reprises pour maintenir l'animal au point auquel on était arrivé et pour augmenter encore, autant que possible, la valeur antitoxique de son sang.

CHAPITRE III.

—

LES MÉTHODES D'ESSAI DE LA VALEUR ANTITOXIQUE DU SÉRUM.

Lorsque, après une série d'expériences suffisamment prolongées, on croit être arrivé à un degré d'immunité assez élevé pour pouvoir utiliser le

sérum obtenu dans un but thérapeutique, il faut pratiquer une saignée de plusieurs litres, en introduisant dans l'axe de la veine jugulaire du cheval un trocart pourvu d'un mandrin auquel s'adapte un tube de caoutchouc qui permette de recueillir le sang d'une façon aseptique.

Préparation du sérum.

Cette petite opération se fait très facilement ; on laisse coaguler dans des vases *ad hoc*, qui ont passé eux-mêmes à l'étuve sèche. Lorsque le sérum s'est séparé du caillot, on l'additionne d'un demi pour cent d'acide phénique, pour en assurer la conservation. On peut également employer le camphre fondu, comme l'a préconisé M. Roux, mais l'acide phénique, beaucoup plus antiseptique, conserve mieux le sérum et est absolument inoffensif, puisque cette dilution revient à injecter *5 centigrammes* par dose !

Avant d'utiliser le sérum pour un cas de diphtérie, il convient de se rendre un compte tout à fait exact de sa valeur antitoxique. Plusieurs méthodes ont été proposées dans ce but, mais aucune d'elles n'a encore été adoptée unanimement par les expérimentateurs.

Méthode des mélanges.

Il est regrettable que la « méthode dite des MÉLANGES », que nous allons décrire dans tous ses détails et qui, de toutes, est la plus pratique et la plus exacte, ne se soit pas encore généralisée. Elle permettrait de comparer entre eux les différents sérums obtenus et de juger de la

valeur des méthodes d'immunisation, ce qui est impossible actuellement par ce fait que les diverses méthodes d'essai ne sont pas comparables entre elles.

On saisit toute l'importance des méthodes d'essai au point de vue des applications cliniques de la sérothérapie : celle-ci ne peut être employée avec toute l'exactitude désirable que si la valeur antitoxique du sérum a été constatée avec la plus parfaite exactitude. Les dernières statistiques, que nous aurons l'occasion de passer en revue plus loin, montrent fort bien qu'il n'est pas indifférent d'injecter 600 unités antitoxiques au lieu de 1500 et plus, et que pour chaque malade, on se trouve en présence d'une indication spéciale.

Nous avons eu l'occasion de rappeler déjà qu'il existe un rapport proportionnel, pour ainsi dire mathématique, entre les doses de poison diphtérique injectées et la quantité de sérum nécessaire pour rendre ce poison inoffensif.

Neutralisation *in vitro*.

Il résulte des premières expériences de Behring et Kitasato que la toxine mélangée au sérum en quantité convenable, dans un tube à réaction, donne naissance à un produit sans action sur l'organisme. Les derniers travaux sur la question ont démontré qu'il existe une distinction fort nette à établir entre cette neutralisation *in vitro* hors de l'organisme et celle qui a lieu dans l'éco-

nomie. Celle-ci demande treize à quatorze fois plus d'antitoxine que l'autre.

L'antitoxine n'agissant pas directement sur le poison et étant au préalable complètement répandue dans l'organisme, n'arrivera qu'en quantité beaucoup moindre en contact avec le poison et il faudra, pour obtenir dans l'organisme une neutralisation équivalente à celle obtenue *in vitro*, une quantité d'antitoxine beaucoup plus considérable.

Méthode d'essai de Behring.

La première méthode (*méthode primitive de Behring*), qui avait servi à évaluer la puissance du sérum antitétanique, consistait à injecter, à une série de cobayes, des quantités variables du sérum à examiner; vingt-quatre heures après, on inoculait la dose mortelle minima du poison tétanique.

La méthode employée par M. Roux se rapproche beaucoup de cette première méthode de Behring: il injecte le sérum antidiphtérique et, vingt-quatre heures après, $^1/_2$ c. c. de culture virulente de diphtérie.

Il considère comme sérum suffisamment antitoxique pour servir aux inoculations aux malades, un sérum dont $^1/_{100}$ c. c. injecté à un cobaye de 500 grammes protège ce dernier contre l'inoculation de $^1/_2$ c.c. de culture virulente de diphtérie, inoculation pratiquée vingt-quatre heures après l'injection du sérum.

La seconde méthode (*méthode primitive de Ehrlich*) a été employée vers la même époque : au lieu de se servir de doses variables de sérum, comme l'avait fait Behring, Ehrlich a employé des multiples de la dose mortelle de poison : on inocule une quantité constante de sérum et, vingt-quatre heures après, une quantité graduellement constante de poison diphtérique, c'est-à-dire des multiples de la dose mortelle. Méthode d'essai de Ehrlich.

Méthode des mélanges. — Ces deux méthodes ont été abandonnées en Allemagne. Depuis plus de deux ans, on ne se sert plus que de la méthode dite des « mélanges », due à Behring et à Ehrlich. Le principe sur lequel elle repose n'est autre que le fait expérimental que nous rappelions plus haut, à savoir que la toxine est rendue inoffensive par un contact direct, dans le tube à réaction, avec le sérum antitoxique. Cette action des deux substances en présence est instantanée. Méthode des mélanges.

Voici comment il convient d'opérer :

Le sérum du sang prélevé aux chevaux immunisés est mélangé en quantités graduellement croissantes à une dose de poison représentant dix fois la dose mortelle pour un cobaye de poids moyen. Manière de procéder.

Si l'on dispose d'une toxine dont 0.10 c. c. tue constamment un cobaye avec les symptômes

de la diphtérie aiguë, dans les trois premiers jours, on prend de cette toxine 1 c. c. qu'on verse dans plusieurs éprouvettes et on y ajoute des doses variables de sérum (0,001, 0,0015, 0,0002, etc.). Le mélange est ramené à 3 ou 4 c. c., par l'addition de la solution physiologique de NaCl et on injecte sous la peau du flanc, à une série de cobayes, de poids aussi égal que possible.

Exemple :

Cobaye	gr.			
I :	0,0006	sér. + 1 c. c. poison	=	† en 2 jours.
II :	0,0007	sér. + 1 c. c. poison	=	† en 15 jours.
III :	0,0008	sér. + 1 c. c. poison	=	Infiltration très forte.
IV :	0,0009	sér. + 1 c. c. poison	=	Infiltration moindre.
V :	0,001	sér. + 1 c. c. poison	=	RIEN. Aucun symptôme appréciable.

Nous dirons, d'après cette expérience, que 1 milligramme de ce sérum neutralise EXACTEMENT 1 c. c. de poison, c'est-à-dire dix fois la dose mortelle. Or, Behring a établi l'unité antitoxique suivante : Une *solution normale d'antitoxine* est constituée par un sérum dont 10 centigrammes

Sérum normal. neutralisent exactement 1 c. c. de poison (c'est-à-dire dix fois la dose mortelle pour un cobaye). Une *unité-Behring* est contenue dans 1 c. c. de ce sérum.

Si, par conséquent, nous obtenons un sérum

dont 1 milligramme suffit pour neutraliser 1 c. c. de poison, ce sérum aura une valeur antitoxique cent fois supérieure au sérum normal, puisqu'il faut une quantité cent fois moindre pour neutraliser la même dose de poison. Ce sérum contiendra 1000 unités Behring dans 10 c. c.

Dose thérapeutique.

Behring a établi que la dose thérapeutique simple peut être considérée comme équivalente à *600 unités*, qui est le minimum de sérum à injecter, minimum qui encore n'est suffisant que pour les cas pris tout au début.

Un détail qui a son importance et sur lequel Ehrlich et Wassermann ont insisté dans leur dernier travail, c'est qu'il ne faut pas se baser, pour apprécier le sérum, sur les doses qui protègent l'animal contre la mort, mais sur la dose qui rend le poison tout à fait inoffensif et empêche *tout symptôme local*, quel qu'il soit.

On arrive de cette façon à pouvoir évaluer très exactement la quantité d'antitoxine contenue dans un sérum. La « méthode des mélanges » peut donc être considérée comme presque mathématique, et nous sommes persuadé qu'elle ne tardera pas à se généraliser.

CHAPITRE IV.

LES MÉTHODES DE CONCENTRATION ET D'EXTRACTION DE L'ANTITOXINE.

Transmission héréditaire de l'immunité.

Ehrlich (1) a trouvé que l'antitoxine passait du sang dans le lait au cours de l'immunisation et que sa présence pouvait y être décelée même en quantité assez notable. La découverte de ce fait expérimental a conduit l'auteur à une théorie nouvelle sur la transmission héréditaire de l'immunité. Tandis que plusieurs auteurs, Tizzoni et Centanni entre autres, avaient prétendu que l'immunité pouvait être transmise par le père, Ehrlich démontra que celle-ci n'est transmise que par la mère à ses petits. Nous avons déjà parlé de la différence capitale entre l'immunité active et l'immunité passive : la première, l'immunité active, amène des changements dans l'organisme qui se traduisent par la production de l'antitoxine spécifique, tandis que la seconde, l'immunité passive, n'est que momentanée et due à l'introduction dans la circulation d'un animal neuf de l'antitoxine prélevée sur un animal immunisé activement ; il n'y a plus ici de

(1) Ehrlich, *loc. cit.*

réaction cellulaire spéciale et l'organisme reste passif.

D'après Ehrlich, l'immunité transmise par la mère à ses petits est toujours passive. Le lait introduit d'une façon quasi continue de l'antitoxine dans l'organisme des petits, et si on leur enlève la mère immunisée pour leur donner une autre nourrice, l'immunité disparaît, parce que le lait nouveau ne contient pas d'antitoxine.

Extraction de l'antitoxine du lait.

On comprend l'intérêt qui s'attache à ces expériences. Elles ont reçu déjà leur application au traitement de la diphtérie chez l'homme, car on a extrait l'antitoxine du lait des chèvres immunisées. Il y a une importance particulière à perfectionner cette méthode d'extraction de l'antitoxine, car une chèvre produisant 1 litre de lait par jour, c'est-à-dire 30 litres par mois, l'antitoxine contenue dans ces 30 litres est égale à la quantité que peut fournir 1 $^1/_2$ litre de sang, quantité notablement supérieure à celle qui peut être prélevée sans danger sur un animal de cette espèce dans le même laps de temps.

Il va sans dire que le lait ne pourra servir à l'extraction de l'antitoxine que s'il contient une quantité suffisante de ce corps et on n'arrive à ce point qu'en expérimentant sur un animal immunisé à un très haut degré. Dans ce cas, les auteurs cités plus haut ont obtenu un lait possédant les

propriétés antitoxiques de deux fois le sérum normal de Behring. En le concentrant légèrement, il peut servir à des applications thérapeutiques.

Au début de l'immunisation, 5 c. c. de lait suffisent à peine pour neutraliser 1 c. c. de poison ; plus tard, lorsque le sérum neutralise à la dose de 0gr,0025 cette même quantité de poison, Ehrlich et Wassermann ont trouvé que 0gr,1 de lait suffit pour rendre cette toxine inoffensive. Le rapport entre la valeur proportionnelle antitoxique du sang et du lait est en moyenne comme 1 : 20.

Il y a quelque intérêt à résumer la méthode employée actuellement pour extraire l'antitoxine du lait ; elle a été décrite récemment par Wassermann [1] et repose sur le principe suivant :

Méthode. Le lait, recueilli dans des vases stérilisés, est additionné de 20 c. c. de NaCl normal par litre et de la quantité convenable de ferment du lab. ; après séparation de la caséine, on décante le sérum, qui est agité avec du chloroforme. Ce dernier enlève la graisse et se dépose au fond du flacon. On décante et on obtient un liquide clair

[1] WASSERMANN, *Ueber Concentrirung der Diphtherie-Antitoxine aus der Milch immunisirter Thiere.* (ZEITSCHR. F. HYG., Bd XVIII.)

qui sert pour la concentration proprement dite. On ajoute 33 °/o de sulfate d'ammoniaque; le précipité est recueilli sur un filtre, séché sur de la porcelaine poreuse dans le vide et dissous dans la quantité d'eau calculée d'après la concentration qu'on désire obtenir : si on a employé 5 litres de sérum et qu'on désire une concentration dix fois plus forte, on dissout dans 500 c. c. d'eau. La quantité de sulfate d'ammoniaque qui reste dans la solution est très faible et n'offre pas le moindre inconvénient pour l'emploi du sérum concentré chez les enfants.

Cette méthode est le perfectionnement des méthodes employées et décrites par Brieger [1] à propos de l'extraction de l'antitoxine du lait des animaux immunisés contre le tétanos.

Cette méthode est basée sur la précipitation fractionnée du sérum du lait par le sulfate ammonique; le précipité contient presque toute l'antitoxine, tandis que la solution, quoique très albumineuse, n'en contient qu'une quantité minime.

On a également proposé des méthodes pour

[1] Brieger et Ehrlich, *Beiträge zur Kenntniss der Milch immunisirter Thiere.* (Zeitschr. f. Hyg., Bd XIII, 1893.) — Brieger et Cohn, *Beiträge zur Concentrirung der gegen Wundstarr. schützenden Substanz.* (Zeitschr. f. Hyg., Bd XV, 1893.)

4.

servir à l'extraction de l'antitoxine du sérum du sang ou à sa concentration : Aronson [1] a publié un procédé très compliqué qui ne semble pas avoir donné de résultats favorables et repose sur un système de filtration spéciale du sérum après dilution et précipitation par le sulfate d'alumine à 10 % et l'ammoniaque à 5 %.

Toutes ces méthodes sont encore loin d'être pratiques; actuellement, il est préférable de s'attacher à augmenter le degré d'immunité des animaux fournissant le sérum et à perfectionner les moyens les plus commodes pour y parvenir.

(1) ARONSON, *Berlin. klin. Wochenschr.*, 1894, nº 19.

DEUXIÈME PARTIE

Les applications du sérum à la diphtérie expérimentale.

CHAPITRE V.

LA GUÉRISON DE LA DIPHTÉRIE CHEZ LES ANIMAUX.

Infection et intoxication diphtériques.

La diphtérie peut être donnée expérimentalement à de multiples espèces animales, soit au moyen de cultures virulentes, soit au moyen du poison, de la toxine extraite des cultures par la filtration sur bougie de porcelaine ou par tout autre procédé.

Löffler a pu, grâce aux admirables méthodes d'isolement des bactéries que nous devons au génie de Koch, coordonner scientifiquement les faits annoncés depuis longtemps par Klebs (1875) et par Oertel (1880).

Koch avait, on le sait, fait remarquer que dans toute étude étiologique d'une maladie, pour pouvoir déclarer qu'une bactérie est la cause réelle de cette maladie, il faut établir d'une façon irréfutable les trois points suivants :

1° Le microbe se retrouve localement, en disposition typique, dans les parties malades de l'organisme ;

2° Cette bactérie à laquelle on veut attribuer, grâce à ses rapports avec les parties malades, un rôle direct dans la production des lésions, doit être isolée et obtenue en culture pure;

3° On reproduira expérimentalement la maladie au moyen de ces cultures pures de la bactérie spécifique.

Premiers résultats expérimentaux.

Déjà dans son premier travail, Löffler avait signalé la production de fausses membranes chez les animaux : la conjonctive du lapin lui avait permis de constater expérimentalement toutes les lésions diphtériques observées chez l'homme.

Des expériences analogues, faites au moyen d'excoriations pratiquées sur la muqueuse vaginale des cobayes, avaient démontré le même fait : les animaux succombaient dans un espace de temps relativement court, avec les symptômes d'intoxication générale que d'autres expériences avaient précisés. (Roux et Yersin.)

Tous ces résultats expérimentaux ont été rendus beaucoup plus précis et plus comparables entre eux par l'emploi de la méthode sous-cutanée.

Diphtérie sous-cutanée.

Le poison diphtérique, inoculé sous la peau, reproduit les symptômes principaux de la maladie. On s'est, dès lors, presque uniquement servi

du poison diphtérique pour tous les essais quantitatifs, car cette façon de procéder permet de faire un dosage très exact et d'opérer avec une précision plus grande que par l'emploi des cultures vivantes.

La plupart des expériences sur la diphtérie se font actuellement sur les cobayes. Cette espèce animale est de beaucoup la plus recommandable pour la pratique des essais de toxicité des poisons comme pour celle des essais de sérum. Les souris, étant naturellement réfractaires, ne peuvent point servir. Behring a établi une échelle de sensibilité des espèces animales vis-à-vis de la toxine diphtérique. Voici cette échelle, en commençant par les animaux les plus sensibles :

1° La chèvre;
2° Le cheval;
3° La vache;
4° Le mouton;
5° Le lapin;
6° Le cobaye;
7° Le chien;
8° Le rat;
9° La souris.

L'injection des produits diphtériques aux cobayes provoque l'éclosion de symptômes bien caractéristiques. Dès le lendemain, on observe, au point de l'injection, une infiltration locale intense. L'animal est moins vif, il paraît abattu. Immobile dans un coin de sa cage, les poils hérissés, il est en proie à une dyspnée intense : la mort survient au bout de un, deux ou trois

jours. Si la diphtérie est très aiguë, les symptômes généraux manquent parfois et à l'autopsie on ne constate pas les lésions caractéristiques.

Lésions de la diphtérie expérimentale.

Nous résumons dans le tableau ci-dessous les diverses manifestations qui s'observent dans cette intoxication diphtérique expérimentale :

1° *Réaction générale :* Amaigrissement rapide ; diminution de poids ; perte des poils ;

2° *Réaction locale :* Œdème mou, gélatineux ou infiltration hémorragique avec exsudat fibrineux au lieu de l'injection ;

3° *Capsules surrénales* rouge-brun, augmentées de volume ;

4° *Congestion rénale ;*

5° *Pleurésie séreuse* abondante, exsudat péritonéal.

Lorsque l'animal ne succombe pas dans les trois premiers jours qui suivent l'injection, la marche peut être considérée comme subaiguë ; dans ce cas, au lieu de l'œdème mou, caractéristique de la diphtérie aiguë, on constate sous la peau, localement à l'endroit de l'injection, une infiltration fibrineuse dure, très consistante. A l'autopsie, on voit que la peau recouvre de grandes masses de fibrine et que les lésions des organes ressemblent à celles de la diphtérie aiguë ; seulement, elles sont moins prononcées. Les capsules surrénales, au lieu d'être rouge foncé, sont rosées, et l'exsudat pleural manque souvent.

Quant aux cas qui évoluent d'une façon chronique, ils succombent tardivement, au bout d'un temps très variable, qui peut même excéder un mois: localement, on constate une nécrose plus ou moins étendue de la peau, qui peut amener une infection septique mortelle, due à l'intervention d'autres bactéries. Dans ces cas chroniques, le cobaye diminue beaucoup de poids; on constate parfois une diminution égale à la moitié du poids primitif. Les symptômes de ces affections évoluant d'une façon chronique, ne sont plus caractéristiques, et il devient souvent difficile d'affirmer, même à l'autopsie, que l'animal a succombé à la diphtérie. Diphtérie chronique.

Outre l'inoculation sous-cutanée, qui est le plus souvent adoptée pour les expériences sur le bacille de Löffler, on a encore utilisé l'injection intra-veineuse, intra-musculaire et intra-péritonéale; mais ces modes d'expérimentation sont abandonnés depuis qu'il est démontré que l'inoculation sous-cutanée donne les résultats les plus constants et les plus comparables entre eux.

Quelle est l'action du sérum dans la diphtérie expérimentale telle que nous l'avons décrite dans le chapitre précédent? La guérison de la diphtérie expérimentale.

On sait que si l'on mélange du sérum, enlevé à un animal immunisé, avec une certaine quantité de poison diphtérique, celui-ci est rendu inof-

fensif et que l'injection du mélange ne provoque plus l'apparition d'aucun symptôme, ni local ni général, si les conditions d'une exacte neutralisation ont été observées. Au lieu de mélanger le poison et l'antitoxine dans un tube à réaction *in vitro*, on peut également faire le mélange dans l'organisme du cobaye, c'est-à-dire injecter d'abord le sérum, puis, vingt-quatre heures après, le poison. Dans ce cas, la dose de sérum employée devra être plus grande que dans l'expérience précédente. Cela se conçoit aisément : au lieu d'agir directement sur le poison, l'antitoxine doit se répandre d'abord dans l'organisme. C'est environ treize fois plus de sérum qu'il faudra employer ici, comme l'ont démontré les expériences de Ehrlich et Wassermann que nous avons déjà signalées : tandis que 0.006 c. c. de sérum suffisent pour neutraliser 0.85 c. c. de toxine *in vitro*, il faudra au moins 0.08 c. c. pour exercer la même action, si la toxine est injectée six heures après le sérum et si l'on fait intervenir l'action de l'organisme dans la réaction.

Il faut remarquer, comme nous l'avons vu plus haut, que dans ces expériences, pour avoir des résultats précis et bien comparables entre eux, on ne calcule pas d'après la dose de sérum nécessaire pour empêcher la mort, mais d'après celle qui doit empêcher l'apparition de tout symptôme,

soit local (œdème, infiltration, etc.), soit général (perte de poids, amaigrissement, etc.), en un mot qui neutralise EXACTEMENT la dose de poison employée.

Action thérapeutique du sérum.

Ces expériences ont été poursuivies et on est arrivé à ce fait expérimental, démontré par Behring, que si le sérum est injecté *après* la diphtérie, intoxication ou infection, il a encore le pouvoir d'arrêter et même de guérir complètement la maladie : c'est là le point de départ de la sérothérapie, qui trouve aujourd'hui une consécration si éclatante dans le traitement du croup chez l'homme.

Diphtérie expérimentale et diphtérie humaine.

Remarquons qu'il existe une analogie complète entre les manifestations de la diphtérie humaine et les symptômes de la diphtérie expérimentale et que l'étude approfondie des accidents consécutifs à cette maladie démontre une identité parfaite entre les deux processus. Ceci nous permet d'appliquer d'emblée les résultats thérapeutiques obtenus dans les laboratoires au traitement de la diphtérie humaine. Dans leur mémorable travail, Roux et Yersin avaient démontré la grande analogie entre les résultats expérimentaux et la diphtérie de l'homme : ils avaient pu produire chez des lapins, par l'ouverture de la trachée et l'inoculation de cultures virulentes, un véritable croup avec respiration

difficile, présence de fausses membranes, gonflement des ganglions du cou, etc. Löffler a même signalé la disposition identique des bactéries dans les fausses membranes chez l'homme et les animaux. Il y a plus : les manifestations les plus éloignées de la maladie, si fréquentes chez les enfants, s'observent chez les animaux en expérience et peuvent être reproduites dans un laboratoire, et, pour ne citer qu'un exemple, les paralysies post-diphtériques, qui occupent une si grande place dans la pathologie infantile, ont été étudiées anatomiquement et trouvées analogues dans les deux cas.

CHAPITRE VI.

LE ROLE DU SÉRUM DANS LES DIPHTÉRIES A ASSOCIATIONS MICROBIENNES.

Les diphtéries à association.

On sait le rôle important que joue dans l'évolution des processus diphtériques l'association de bactéries secondaires au bacille de Löffler. Celui-ci s'observe très rarement seul dans les affections pseudo-membraneuses et on trouve à côté de lui des bactéries saprophytes, hôtes habituels de la cavité buccale, qui, lorsqu'une affection diphtérique se développe, jouent un

rôle important dans l'évolution de la maladie. Nous savons combien le pronostic s'assombrit par l'association du streptocoque au bacille de Löffler. Malheureusement, ces affections à cours rapide, à marche parfois foudroyante, sont peu influencées par le sérum antidiphtérique. La mortalité, qui a tant diminué dans les cas de vraie diphtérie, est restée très élevée dans les affections qui se compliquent de la présence du streptocoque.

Il était intéressant de rechercher si, expérimentalement, on ne parviendrait pas à découvrir une action spéciale des deux bactéries en présence : c'est ce qui a fait l'objet de nombreux travaux depuis ces dernières années.

Recherches expérimentales.

On s'est demandé si les streptocoques, agents principaux de l'infection secondaire dans la diphtérie, pouvaient agir sur l'organisme du malade atteint de diphtérie, soit directement, en constituant une infection nouvelle se surajoutant à la maladie primitive, soit indirectement, en augmentant la virulence du bacille de Löffler. On s'est généralement rallié à cette seconde manière de voir : Roux et Yersin [1] ont obtenu la mort des cobayes par l'injection simultanée de streptocoques et d'une culture affaiblie de bacilles de Löffler, non mortelle par elle-même.

[1] Roux et Yersin, *Loc. cit.*

Les expériences de Barbier.

Barbier [1] s'est servi, pour des expériences analogues, de la surface apparente des muqueuses, qu'il contaminait de diphtérie comme l'avaient fait précédemment Löffler et Roux. Il pensait se rapprocher ainsi des conditions habituelles de la diphtérie humaine et évitait les injections sous-cutanées. La diphtérie des muqueuses est très facile à provoquer chez des animaux, tels que les cobayes, par exemple. Il est facile d'observer et d'étudier les fausses membranes de la diphtérie vulvaire et vaginale chez les cobayes femelles. Barbier, dans ses expériences, a obtenu ainsi des résultats très différents, selon qu'il inoculait des cultures pures de bacilles de Löffler ou des cultures impures, associées aux streptocoques.

Dans une série d'expériences analogues, Mya et Garré [2] ont démontré le rôle des streptocoques, des staphylocoques et même des pneumocoques dans l'infection diphtérique.

Ils ont trouvé : 1° que l'association du streptocoque a toujours été suivie de symptômes dénotant une intoxication plus grave que dans la diphtérie isolée. Mais l'action des streptocoques

(1) BARBIER, *De quelques associat. microb. dans la diphtérie.* (ARCHIVES MÉD. EXPÉR., t. II, 1893.)

(2) MYA et GARRÉ, *Sur la pathologie de l'infection diphtérique.* (COMPTE RENDU DU XI[e] CONGRÈS DE ROME.)

sur l'organisme ainsi que leur présence dans les organes n'ont pu être démontrées.

2° L'association des streptocoques a été suivie d'une exagération des symptômes locaux, sans influence directe sur l'état général, sur l'intoxication; les staphylocoques étaient retrouvés dans le sang du cœur.

Les diphtéries à association et la sérothérapie.

Nous-même (1) avons recherché si l'association du streptocoque à la diphtérie ne pourrait influencer les résultats du traitement sérothérapique appliqué à la diphtérie expérimentale.

Grâce à l'emploi du sérum antidiphtérique, nous parvenions dans nos expériences à protéger les cobayes contre une dose donnée, soit de culture diphtérique, soit de toxine.

Les expériences avec la toxine diphtérique associée au streptocoque n'ont décelé aucune différence bien caractéristique, mais il en était tout autrement dans les expériences faites avec les cultures, expériences qui nous ont paru très concluantes. La même quantité de culture diphtérique virulente qui est combattue efficacement par une certaine dose de sérum injectée vingt-quatre heures auparavant, parvient cependant à tuer rapidement les animaux si, au moment de

(1) Funck, *Experimentelle Studien über die Frage der Mischinfection bei Diphterie.* (Zeitschr. f. Hyg., Bd XVII, H. III.)

l'injection, on inocule une certaine quantité de streptocoques, absolument inoffensifs pour un cobaye témoin.

Nous rappelons ci-contre l'expérience la plus concluante obtenue au moyen de streptocoques très virulents. Les cobayes soumis à l'infection mixte ont succombé régulièrement dans l'espace d'une semaine environ, tandis que les animaux de contrôle restaient en vie sans présenter le moindre phénomène morbide.

Il faut par conséquent tenir compte de l'association microbienne dans la neutralisation du poison diphtérique par l'antitoxine ; nous avions pensé pouvoir expliquer ce fait expérimental par l'augmentation de la quantité de poison sécrétée par les bactéries et répandue dans l'organisme.

Nos expériences de contrôle, entreprises avec la toxine diphtérique pure et associée au streptocoque, n'ont pas démontré cette différence dans les résultats.

Expériences de Roux.

Roux a également étudié l'action du sérum dans l'infection mixte. Il recherche cette infection mixte, non plus par injection sous-cutanée, mais par inoculations trachéales, après trachéotomie. L'association des deux bactéries, diphtérie et streptocoque, a produit chez le lapin une diphtérie à marche rapide, avec broncho-pneumonie et sécrétion bronchique abondante. Le

Expériences démontrant le rôle des streptocoques virulents dans l'infection mixte.

DATES.	COBAYES.	POIDS.	SÉRUM.	24 HEURES APRÈS ON INJECTE :	SUITES DE L'INJECTION.
5 fév. 1894 . .	83	270	0	0.10 cult. vir. 48 h.	† en 2 jours (sympt. typiques).
5 fév. 1894. . .	84	330	0.01	0.10 cult. vir. 48 h.	Absolument aucun symptôme.
5 fév. 1894. . .	85	308	0.01	0.10 cult. dipht. 2 c. c. streptocoque.	Poids 302 gr. le 8-2-94. OEdème mou. — 295 gr. le 9-2-94. Idem. — 285 gr. le 10-2-94. Très malade. — 270 gr. le 11-2-94. † diphtérie.
5 fév. 1894. . .	86	282	0.01	0.10 cult. dipht. à dr. 2 c.c. strept. à gauche.	Poids 290 gr. le 9-2-94. OEdème mou. — 270 gr. le 10-2-94. Idem. — 250 gr. le 11-2-94. Idem. — 240 gr. le 12-2-94. Très malade. — 225 gr le 13-2-94. † diphtérie.
5 fév. 1894. . .	87	270	0	2 c. c. cult. strept. 24 h.	Aucun phénomène appréciable tant local que général.

sérum n'amenait que rarement la guérison dans ces expériences : « Non pas, dit Roux, qu'il y ait formation d'une plus grande quantité de toxine diphtérique, ou que l'action antitoxique du sérum soit empêchée, mais parce que les cellules frappées par le poison du streptocoque ne ressentent plus de stimulation de l'antitoxine. » Nous aurons prochainement l'occasion de revenir sur des expériences analogues, faites au moyen d'animaux immunisés contre les deux bactéries, streptocoque et diphtérie, et qui pourront peut-être éclaircir un côté de cette question, restée sans solution jusqu'ici.

Roux a également essayé le sérum d'animaux immunisés contre le streptocoque, mais les essais combinés avec ce sérum et le sérum antidiphtérique ne lui ont pas fourni jusqu'ici de résultats très concluants.

Dans une brochure récemment parue (*Die Diphtherie*, par Schürmayer, Hannover), où notre travail est analysé, l'auteur dit que « nos expériences ne sont pas comparables à celles qui ont été faites jusqu'ici, parce que nous avons mélangé, non pas des cultures vivantes, mais du poison diphtérique aux cultures de streptocoque » !!

Nous ferons remarquer à l'auteur : 1° que nos expériences ont porté autant sur les cultures vivantes et même très virulentes, que sur le poi-

son diphtérique; 2° que ce sont précisément les expériences sur les bactéries vivantes qui ont réussi et ont permis de tirer les conclusions du travail !

CHAPITRE VII.

LES THÉORIES PROPOSÉES POUR L'EXPLICATION DE L'ACTION DU SÉRUM.

Action directe de l'antitoxine sur la toxine.

Il n'entre pas dans le cadre de ce petit volume de discuter les différentes théories proposées pour expliquer l'action intime du sérum antitoxique sur l'organisme.

On sait que dans son premier travail, publié avec Kitasato en 1890, Behring a mis en évidence la destruction, la neutralisation complète du poison tétanique mis en présence de son antitoxine en dehors de l'organisme, dans un tube à réaction. Il y aurait là, d'après ces recherches, une action chimique spéciale qui rend la toxine tétanique inoffensive lorsqu'elle a été mise en présence de son antitoxine. Behring a continué ses intéressantes expériences sur ce sujet et a trouvé, au cours de travaux ultérieurs, qu'un mélange de sérum et de toxine absolument inoffensif pour un cobaye normal, pouvait parfaite-

ment produire des accidents souvent très graves, et même la mort, si ce mélange était injecté soit à une espèce plus sensible à la toxine, soit à un cobaye dont la résistance est affaiblie par des inoculations antérieures de toxine. Il a appliqué le terme de *hypersensibilité* à ce phénomène qui se rencontre au cours de l'immunisation et qui constitue un danger très grand pour les animaux en expérience. Comme Behring l'a fait très justement remarquer, on retrouve ici l'application du phénomène de la « sensibilité exaltée », processus découvert par Robert Koch et utilisé pour le traitement de la tuberculose humaine.

Le principe de l'hypersensibilité.

Koch, on se le rappelle, n'ayant pas trouvé d'espèce d'animale pouvant servir à la démonstration de l'action toxique du poison tuberculeux, avait soumis les cobayes à un traitement préalable. Ces cobayes, auxquels il avait donné la tuberculose, réagissaient d'une façon typique aux injections du poison tuberculeux, à la tuberculine, et présentaient tous les phénomènes d'un empoisonnement violent. Par conséquent, grâce au processus tuberculeux, les cobayes malades devenaient plus sensibles que les cobayes normaux : en un mot, ils étaient « hypersensibles ».

Application à la diphtérie.

Il était très intéressant, dans les essais relatifs à la diphtérie, de vérifier si les animaux à sensibilité exaltée pouvaient produire de l'antitoxine

dans leur organisme. L'expérience suivante le démontre d'une façon évidente : Un cheval possède dans 1 c. c. de son sang suffisamment d'antitoxine pour rendre inoffensive, pour un cheval normal, une quantité de toxine dont une petite partie pourtant suffit pour tuer le cheval fournissant l'antitoxine. Cette expérience a permis à Behring de démontrer que les termes toxines et antitoxines sont des termes de valeur bien relative : ce qui constitue, en effet, un poison pour des animaux hypersensibles, ne l'est plus pour des animaux normaux et est supporté par eux sans réaction aucune.

Ces substances, dont la nature chimique nous est totalement inconnue, sont des corps dont la puissance dépend uniquement de la réceptivité de l'animal en expérience ou de la sensibilité du réactif chimique qui sert à les doser.

Le principe de Koch sur la sensibilité exaltée, que nous avons rappelé plus haut, n'est pas un phénomène propre à la tuberculose seulement; il se retrouve dans les expériences analogues pour un certain nombre d'autres affections; la malléine, par exemple, qui est aujourd'hui d'un usage courant en art vétérinaire, sert à démontrer la morve latente et rend les plus grands services.

L'action directe des deux substances qui nous

intéressent, la toxine et l'antitoxine, a été mise en doute par un grand nombre d'expérimentateurs; il s'en faut de beaucoup qu'elle soit adoptée unanimement, et il est intéressant de voir jusqu'où le débat peut s'étendre. Nous savons depuis longtemps, par les expériences de Pfeiffer [1], qu'un sérum normal, au même titre qu'une solution physiologique de NaCl à 0.5 °/o ou qu'un bouillon ordinaire, protège contre l'infection cholérique intrapéritonéale.

Cette action générale et non spécifique du sérum est reconnue pour la plupart des maladies infectieuses. Mais il existe également une action spécifique caractéristique pour certaines bactéries et que les travaux de Pfeiffer ont surtout mise en en évidence. Nous-même [2] avons eu l'occasion de la démontrer pour l'infection intrapéritonéale due au bacille de la fièvre typhoïde et au *bacterium coli*. Le mécanisme de cette influence spécifique a fait l'objet des études de Metchnikoff, qui a prouvé que la phagocytose y joue un rôle prépondérant. C'est un fait expérimental qui ne peut plus être mis en doute actuellement. Mais à

(1) PFEIFFER, *Loc. cit.*

(2) FUNCK, *Étude sur l'immunité contre la fièvre typhoïde.* (JOURNAL DE MÉDECINE DE BRUXELLES, 1er décembre 1894.)

côté de cette véritable fonction « bactéricide » du sérum, — qui met en jeu l'excitation cellulaire de l'organisme et amène un renforcement dans la vie des globules blancs, pour leur permettre de protéger l'organisme contre les *bactéries vivantes* qui tentent de l'envahir, — nous avons vu que dans deux affections, spécialement étudiées en ce moment, le tétanos et la diphtérie, on a démontré l'existence d'une fonction plus obscure, moins facile à interpréter, la fonction antitoxique, c'est-à-dire la fonction qui aide à la préservation et à la guérison de l'organisme, non plus en proie aux bactéries vivantes, mais attaqué dans sa constitution chimique par les *produits toxiques* des bactéries, les toxines microbiennes. On est loin d'être d'accord sur le mécanisme de cette fonction antitoxique. Ce qu'il faut retenir, c'est que le sérum enlevé aux animaux auxquels on a conféré, par des procédés spéciaux, un degré d'immunité très élevé, possède la *fonction bactéricide* au même titre que le sérum normal, c'est-à-dire qu'il protège contre l'infection par les bactéries vivantes; mais que, dans le tétanos et la diphtérie, il possède en outre cette *fonction antitoxique,* qui semble être un degré plus élevé dans l'échelle de l'immunité.

Fonction bactéricide et antitoxique du sérum.

La théorie de la neutralisation du poison tétanique par son antitoxine a soulevé depuis

La théorie de Buchner.

longtemps les protestations de Buchner (1). Ce savant prétend que le mélange de toxine et d'antitoxine, loin de constituer une neutralisation, une destruction même partielle du poison, laisse les deux corps inaltérés l'un en présence de l'autre. Il prétend que l'innocuité du mélange résulte de l'action *rapide* du sérum sur l'organisme, et que l'animal serait simplement rendu réfractaire par l'action du sérum qui agit rapidement sur ses cellules et rend celles-ci insensibles à l'action de la toxine.

Action indirecte du sérum sur la toxine.

Buchner a préparé un mélange de poison et de sérum antitétanique : ce mélange est sans action sur une espèce donnée, la souris blanche, par exemple. Il injecte le même mélange à une espèce plus sensible au tétanos, à un cobaye, et constate chez ce dernier des symptômes graves d'intoxication tétanique. Buchner prétend que si les affirmations de Behring étaient exactes, l'injection devrait rester inoffensive, même pour des cobayes : or, c'est le contraire qui se présente. Il en conclut que le poison n'est pas détruit, pas plus pour les souris que pour les cobayes, et qu'en réalité, dans le mélange, l'antitoxine et le poison sont restés sans action l'un

(1) BUCHNER, *Beruht die Wirkung des Behring'schen Heilserum auf Giftzerstörung?* (BERL. KLIN. WOCHENSCHR., 1894.)

sur l'autre et agissent indépendamment l'un de l'autre sur l'animal auquel on les injecte.

Objections aux expériences de Buchner.

Les expériences de Buchner ne suffisent pas à infirmer le principe de la neutralisation du poison par l'antitoxine : l'intervention de plusieurs espèces animales dans le cours d'une expérience est une cause d'erreur qui enlève tout point de comparaison, et Behring n'a d'ailleurs jamais prétendu que la neutralisation fût absolue, correspondît à un mélange d'acide et d'alcali, par exemple. On peut parfaitement admettre une neutralisation partielle, relative, efficace pour les animaux d'une même espèce et dans des conditions de sensibilité identiques, insuffisante et inefficace pour des espèces différentes et plus sensibles.

Comme nous le disions plus haut, les termes poison et antitoxine ont une valeur relative, dont l'appréciation dépend absolument du réactif employé à les déceler, puisque leur nature chimique nous est totalement inconnue.

Théorie de Roux.

On n'est pas parvenu à faire reparaître d'un mélange de poison et d'antitoxine, la toxine pure. Roux dit que pour y arriver, on doit s'adresser à d'autres sérums que ceux de la diphtérie et du tétanos. Les animaux vaccinés contre les venins des serpents possèderaient un sérum qui a des propriétés antitoxiques certaines ;

en chauffant le mélange, la chaleur détruit l'antitoxine et le mélange redevient actif. (Calmette.)

Pour l'École de Paris, le sérum est un excitant cellulaire; le sérum antitoxique du tétanos et de la diphtérie agit sur les phagocytes au même titre que le sérum bactéricide des autres maladies infectieuses, qui ne protège que contre l'infection par les bactéries vivantes.

Nous ne voulons pas prolonger la discussion de cette question encore absolument théorique actuellement. Il est probable qu'on arrivera à démontrer qu'une part de la vérité se trouve dans chacune de ces deux théories extrêmes, la neutralisation directe du poison par son antitoxine et l'action exclusive sur les globules blancs.

TROISIÈME PARTIE.

Les applications du sérum aux malades. Résultats.

CHAPITRE VIII.

LE DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE LA DIPHTÉRIE

L'action thérapeutique du sérum s'exerce sur les affections dues au bacille de Löffler, c'est-à-dire sur la diphtérie reconnue bactériologiquement; son action est nulle vis-à-vis des affections pseudo-membraneuses, produites par d'autres bactéries, affections qui guérissent d'elles-mêmes et ne réclament pas le traitement spécifique. Importance du diagnostic bactériologique.

Il est donc de la plus haute importance pour le médecin praticien de pouvoir reconnaître si le cas en présence duquel il se trouve est ou n'est pas de la vraie diphtérie. Cette différenciation n'est possible qu'à l'aide des méthodes bactériologiques, et celles-ci ne sont pas d'un usage suffisamment répandu pour pouvoir être pratiquées

par chacun; elles nécessitent une habitude spéciale des travaux de laboratoire.

Les représentants de toutes les nations européennes qui ont assisté au Congrès de Budapest du mois de septembre dernier, ont été frappés de la perfection du système hygiénique qui fonctionne depuis plusieurs années à New-York, à la plus grande satisfaction du corps médical.

Le système américain.

L'examen bactériologique de la diphtérie y est pratiqué dans un laboratoire central, sur envoi de tubes ensemencés directement par le médecin : ce système facilite considérablement la tâche du praticien qui se trouve en présence d'un cas d'angine suspect. Le département sanitaire de New-York s'est chargé de déposer chez la plupart des pharmaciens de la ville, des étuis en bois contenant deux tubes : 1° un tube stérilisé pour le tampon, qui est fixé à l'extrémité d'une petite tige et sert à prélever les mucosités ou les fausses membranes dans la gorge du malade ; 2° un tube avec du sérum coagulé, que le médecin ensemence directement avec le tampon du premier tube. Le tout est remis à la pharmacie voisine et tous les soirs les étuis sont recueillis et rapportés à l'Institut. Le diagnostic est fait gratuitement au laboratoire central, qui communique le lendemain les résultats de l'analyse, soit par téléphone, soit par carte postale.

Dans ces derniers temps, on a peut-être exagéré la facilité du diagnostic bactériologique de la diphtérie.

Comme pour le choléra, le diagnostic de la diphtérie exige du temps et des connaissances spéciales en bactériologie.

Il serait utile que dans les grandes villes, où le médecin pratiquant a tous ses moments comptés, il y eût une installation bactériologique centrale, dans le genre de celle qui fonctionne depuis deux ans à New-York. Tout le monde se trouve d'accord aujourd'hui pour admettre le haut intérêt scientifique et l'importance pratique qu'il y a à pouvoir déclarer rapidement si un cas suspect de diphtérie est dû au bacille de Löffler ou non.

Statistiques basées sur le diagnostic bactériologique.

Surtout depuis l'emploi du nouveau remède contre la diphtérie, il est indispensable de pouvoir baser l'appréciation des résultats de la méthode sur des faits rigoureusement scientifiques. Il n'est plus guère possible actuellement de se borner à édifier de grandes statistiques, ne reposant pas sur le diagnostic bactériologique, mais simplement sur le diagnostic clinique, devenu tout à fait insuffisant. Les examens pratiqués méthodiquement par divers bactériologistes ont démontré que sur 878 cas diagnostiqués comme diphtéries vraies d'après les symptômes

cliniques, 316 n'en étaient pas et n'avaient rien de commun, aupoint de vue étiologique, avec l'affection produite par le bacille de Lõffler.

Dans les examens pratiqués à New-York (1) sur 5611 cas d'angines suspectes, 3255 seulement ont été démontrées diphtériques, présentant une mortalité de 45 °/₀, tandis que pour les 1540 cas restants, que l'examen au moyen des cultures a pu faire classer immédiatement dans les affections bénignes, non diphtériques. on n'a constaté que 6 °/₀ de mortalité. Ces chiffres sont extrêmement intéressants et concordent du reste avec les statistiques publiées jusqu'ici. Roux a rapporté que sur 448 cas de diphtérie diagnostiqués cliniquement et ayant nécessité une ou plusieurs injections du sérum spécifique, 128 se sont révélés non diphtériques à l'examen bactériologique et ont évolué d'une façon toute bénigne.

La fausse membrane n'est qu'un symptôme.

On peut conclure de ces chiffres que la fausse membrane est une lésion anatomique (2) qui peut reconnaître des causes très diverses (agents chimiques, parasites variés, staphylocoques, streptocoques, pneumocoques, etc., etc.), et l'on pour-

(1) Hallock Park et Beebe, *Diphteria and Pseudo-dipht.* (Journal of laryngol., nov. 1894.)

(2) Wurtz et Bourges, *Arch. de méd. expér.*, mai 1890.

rait dire qu'en résumé, sans examen bactériologique, sur quatre cas, il se produit une erreur de diagnostic.

Importance du diagnostic.

Outre l'intérêt spécial qui se lie actuellement à toute application de la sérothérapie, le diagnostic bactériologique s'impose non seulement parce qu'il permet de reconnaître la présence du bacille spécifique ou son association à d'autres microorganismes secondaires, mais encore parce qu'il présente une importance énorme au point de vue PROPHYLACTIQUE. Il permet d'établir une sorte de diagnostic précoce de la diphtérie, longtemps avant que les symptômes morbides n'aient apparu, et d'isoler par conséquent un malade dès le début du mal, avant qu'il n'ait répandu les germes autour de lui.

1° Pour la prophylaxie.

Au point de vue du PRONOSTIC, un diagnostic exact permettra de juger de prime abord, d'après la pureté des cultures ou la présence de nombreuses bactéries secondaires, si l'évolution de la maladie ne peut être influencée efficacement au moyen du sérum antitoxique. Enfin, au point de vue du TRAITEMENT, la généralisation de ces examens permettra d'instituer à temps le traitement spécifique et là seulement où on est en droit d'en attendre des effets universellement reconnus, c'est-à-dire dans les cas où le bacille de Löffler joue le *rôle principal*. En effet, si les bactéries

2° Pour le pronostic.

3° Pour le traitement.

secondaires ont une tendance à compromettre le cours favorable de la maladie traitée sérothérapiquement, il sera indiqué de recourir à un traitement local énergique, comme nous le verrons plus loin. (Traitement avec la solution de Löffler, par exemple.)

Le système américain, que nous avons décrit plus haut, peut être simplifié, et cette tentative vient d'être faite par le professeur von Esmarch [1] à Kõnigsberg.

Méthode d'Esmarch.

Au lieu d'employer les étuis assez volumineux avec des tubes de sérum, d'après cette nouvelle méthode on distribue des tampons stérilisés, contenus dans de petites enveloppes de papier fort, du genre de celles qui servent à renfermer les poudres pharmaceutiques. Comme tampon, on se sert de parcelles d'éponge fine, de la grandeur d'un pois. On saisit le tampon entre les mors d'une pince rapidement stérilisée en la passant dans une flamme quelconque, on promène doucement à la surface des parties malades, qu'on évite de faire saigner par une application trop brusque. Le tout est remis sous enveloppe et envoyé aussitôt à l'Institut central, où l'examen est pratiqué dans les vingt-quatre heures et le résultat envoyé aussitôt au médecin traitant.

(1) VON ESMARCH, *Die Durchführung der bact. Diagn. bei Dipht.* (DEUTSCHE MED. WOCHENSCHR., 1895, n° 1.)

Le système de diagnostic proposé par Esmarch est si simple et si pratique qu'on peut espérer qu'il se répandra bientôt dans les services hygiéniques de toutes les grandes villes qui disposent d'un laboratoire ou d'un institut de recherches bactériologiques.

Procédés de diagnostic.

Pour faire un diagnostic bactériologique complet de la diphtérie, trois procédés expérimentaux peuvent être appliqués. Ce sont :

1° La *préparation directe* de l'exsudat;

2° La *méthode des cultures;*

3° L'*inoculation des cultures aux cobayes.*

I. *La préparation directe.* — La préparation directe est insuffisante dans la plupart des cas pour diagnostiquer avec certitude la présence du bacille de Löffler. Nous insisterons un peu sur cette méthode parce que nous devrons y revenir également plus loin pour l'examen rapide des cultures pures. Il existe d'ailleurs certains détails de technique qui peuvent la rendre plus pratique et qu'il est bon de signaler en passant. On procède de la façon suivante : **Examen direct.**

« A la surface d'une lamelle bien propre et maintenue entre les mors d'une pince bactério- **Méthode à employer.**

logique, on promène circulairement le tampon, le morceau d'ouate qui a servi à recueillir les matières au fond de la gorge, ou encore la parcelle de fausse membrane qui aura pu être détachée. Si ces matières ont séché et n'adhèrent pas au deckglass, on ajoute une goutte d'eau stérilisée. Laisser sécher, passer trois ou quatre fois dans la flamme d'un bec de Bunsen pour fixer et verser deux ou trois gouttes du colorant sur la préparation. Le colorant choisi n'a aucune importance, pourvu qu'il soit assez DILUÉ; nous nous servons couramment du bleu de méthylène, préparé d'après la FORMULE DE KOCH, qui est la suivante :

Bleu de Koch.

On mélange 200 c. c. d'eau distillée avec 1 c. c. d'une solution alcoolique concentrée de bleu de méthylène ; on agite et on ajoute 20 centigrammes d'une solution de potasse à 10 %. Ce mélange reste clair et sans précipité pendant un certain temps. Il est bon de renouveler la solution tous les *mois*.

Après avoir versé les deux ou trois gouttes à la surface du deckglass, on chauffe directement dans la flamme du bec de Bunsen en y passant la préparation lentement trois ou quatre fois, jusqu'à production de vapeurs, et en évitant soigneusement l'ébullition. Il suffit alors de retourner le deckglass sur une lame porte-objet,

sans laver ; on essuie au papier buvard, on dépose une goutte d'huile de cèdre, si l'objectif est à immersion — ce qui est de beaucoup préférable dans les recherches bactériologiques — et on examine la préparation. Cette méthode est de loin la plus rapide et la plus commode; elle convient surtout pour les examens des cultures pures; lorsqu'on examine les exsudats ou des parties de fausses membranes, il est préférable, après l'emploi du bleu de méthylène et de la chaleur, de sécher la préparation après l'avoir lavée à l'eau et d'examiner dans une goutte de baume de Canada dissous dans le xylol.

Insuffisance de ce procédé.

Il est rare que l'examen direct, pratiqué de cette façon, suffise pour diagnostiquer la présence certaine du bacille diphtérique : cela n'arrive guère que si l'on a pu détacher une parcelle de fausse membrane et encore, même dans ces cas, on trouve dans les préparations un si grand nombre de bactéries secondaires, saprophytes de la bouche, staphylocoques, streptocoques, etc., etc., que la présence du bacille recherché est souvent masquée par ces éléments étrangers. Pour éviter cet inconvénient, on avait recommandé l'emploi de la MÉTHODE DE GRAM, qui colore les bacilles de Löffler et aurait permis un diagnostic sûr et rapide.

La méthode de Gram.

Si l'on consulte les ouvrages de bactériologie,

comme Plaut (¹) l'a fait récemment, on trouve d'un côté, d'après Hueppe, Schenk, Heisse et Migula, que le bacille diphtérique se décolore d'après la méthode de Gram, tandis qu'il resterait coloré après l'emploi de cette méthode, au dire de Roux et Yersin, Tangl, Abel et Seiffert.

Opinions divergentes sur son emploi.

Si l'on examine expérimentalement pourquoi ces divergences d'opinion ont pu s'établir sur une question aussi simple, on constate qu'il s'agit ici d'une action plus ou moins prolongée de l'alcool, du réactif décolorant : si l'on attend que l'alcool ait rendu la préparation tout à fait incolore, les bacilles ne restent pas colorés; si, au contraire, on ne laisse agir ce réactif que jusqu'à décoloration incomplète, jusqu'à la teinte « gris pâle » recommandée par Gram, les bacilles restent parfaitement violets : Plaut a employé l'huile d'aniline pour remplacer l'alcool comme réactif décolorant; toutes ces méthodes sont en somme moins pratiques et moins rapides que la simple coloration au bleu dilué, en chauffant un peu le deckglass sur le bec de Bunsen.

Emploi des cultures.

II. *La méthode des cultures.* — Lorsque ce premier examen, la préparation directe, sera

(¹) PLAUT, *Studien zur Diagnostik der Diphterie.* (DEUTSCHE MED. WOCHENSCHR., 1894, nº 49.)

terminé, — et il doit être pratiqué autant que possible dans tous les cas, avec ou sans fausses membranes, — on aura recours au second moyen d'examen bactériologique, aux cultures sur milieux solides.

A. *Cultures sur sérum.* — Löffler avait recommandé l'emploi du sérum coagulé pour les cultures de diphtérie, et surtout pour le diagnostic rapide, les bacilles poussant plus rapidement sur ce milieu que sur tout autre. *a)* Méthode sur sérum coagulé.

Le sérum de Löffler est préparé de la même façon que le sérum ordinaire; on y ajoute simplement une partie de bouillon légèrement alcalin pour trois ou quatre parties de sérum. Ce bouillon contient 1 % de peptone, $^1/_2$ % de sel et 1 % de glucose.

Ce milieu a été très employé jusqu'ici pour les cultures de diphtérie. Il faut dire que le bacille diphtérique y pousse avec une extrême rapidité : au bout de douze à quatorze heures déjà, si le tube a séjourné à l'étuve à 37°, on constate un développement très apparent. Au bout de la dix-huitième heure, les colonies ont les dimensions d'une tête d'épingle et on leur reconnaît une coloration blanc laiteux. Les bords sont réguliers, plus épais que le centre, qui se trouve légèrement déprimé en cupule. Toute la colonie a un aspect

luisant, humide, qui atteint son maximum à la vingt-quatrième heure, pour diminuer alors rapidement et prendre un aspect mat caractéristique.

b) Méthode sur agar.

B. *Cultures sur agar.* — Comment le bacille de Löffler se développe-t-il sur agar? Flügge a démontré le premier que l'agar est un bon milieu de culture pour le bacille diphtérique. Hoffmann et Escherich prétendent, au contraire, qu'il pousse très mal sur ce milieu. Nous avons pu constater maintes fois nous-même que l'agar, exactement alcalinisé, constitue un milieu très convenable pour la culture du bacille de la diphtérie. Les dimensions de ses colonies par rapport aux autres bactéries ensemencées en même temps, lorsqu'on fait un diagnostic de fausse membrane, restent évidemment très inférieures à celles-ci, mais c'est précisément l'avantage que nous trouvons, au point de vue pratique, à nous servir exclusivement des plaques d'agar pour le diagnostic. Rien n'est plus simple que d'enlever le couvercle de la plaque et d'observer à un faible grossissement. Il est aussi facile alors de concentrer son attention sur les colonies peu développées que sur celles qui le sont le plus.

Voici la méthode dont nous nous servons presque exclusivement : L'agar, soigneusement

alcalinisé avec une solution normale de soude, est versé à chaud dans des plaques de Petri bien stérilisées. Pour faire le diagnostic, on découvre une de ces plaques, on promène à sa surface la parcelle de fausse membrane ou le tampon dont nous parlions plus haut, au moyen d'une pince stérile, et on dépose à l'étuve à 37° pendant dix-huit à vingt-quatre heures. Il faut avoir soin de RETOURNER la plaque dans l'étuve, c'est-à-dire de mettre le *couvercle en bas*, afin de permettre à

Le diagnostic au moyen des plaques de Petri.

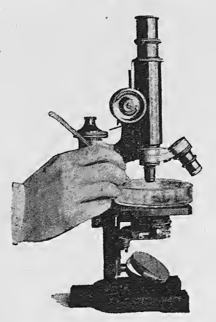


Fig. 3. — Examen des plaques d'agar.

l'eau de condensation qui se dégage inévitablement, de rester dans l'agar et de l'empêcher de se déposer à la surface intérieure du couvercle. Le lendemain, les plaques sont examinées à un faible grossissement sous l'objectif même du microscope (Zeiss, objectif A, ocul. 2), en ayant soin de fermer complètement le diaphragme, pour obtenir un contour net des colonies à examiner.

Il s'agit alors de distinguer toutes les colonies les unes des autres : on y arrive assez facilement, avec un peu d'exercice et d'habitude. Chaque bactérie, *à cette période de son développement*, présente un aspect caractéristique qui permet, dans la généralité des cas, de conclure de visu. Cependant, pour rendre l'opération tout à fait rigoureuse, il est recommandable de « *pêcher* » à ce moment la colonie suspecte, sous le microscope, au moyen d'un fil de platine TRÈS FIN, monté sur une tige de verre. On frotte l'aiguille sur un deckglass, après avoir déposé à la surface de celui-ci une très petite goutte d'eau. On sèche, on fixe, on colore, comme nous l'indiquions plus haut. Si l'examen microscopique révèle la présence du bacille de Löffler, il est très simple de reprendre une colonie identique et d'en piquer dans des tubes de bouillon qui serviront ultérieurement à l'examen de la virulence et à l'injection aux cobayes.

Comme nous le faisions remarquer déjà, ce procédé nous paraît très simple et très recommandable lorsqu'on a un certain nombre de diagnostics à pratiquer tous les jours. Il permet, en outre, de se faire une idée exacte du nombre et des rapports des bactéries associées et de préciser, par conséquent, les éléments du *pronostic* de l'affection qu'on étudie.

Si nous essayons d'esquisser rapidement les caractères principaux des colonies qui se trouvent le plus généralement dans les plaques ensemencées avec des exsudats de fausses membranes suspectes de diphtérie, nous voyons que : **Les caractères spéciaux des colonies.**

1° Le *bacille de la diphtérie*, peu développé à cette période sur les plaques, se présente le long des stries en petites colonies régulièrement arrondies ou finement dentelées, brunâtres, dont les bords assez pâles contrastent fortement avec le centre, qui est plus foncé et paraît formé de PETITS GRAINS NOIRS BROYÉS SUR UN FOND CLAIR ; **1. Diphtérie.**

2° Les *colonies de staphylocoques* sont *beaucoup plus* volumineuses et se reconnaissent facilement à l'œil nu : elles sont d'un brun foncé HOMOGÈNE et uniforme, régulièrement arrondies, ne présentent pas ces petits grains noirs centraux caractéristiques et occupent souvent tout le champ du microscope à ce grossissement, tellement elles sont développées ; **2. Staphylocoques.**

3. Streptocoques.

3° Les *streptocoques*, au contraire, présentent des colonies plus petites, souvent MOINS développées que celles de la diphtérie; ces colonies sont tantôt d'un brun très pâle, presque blanchâtres, également homogènes, tantôt elles présentent un amas de PETITES SPIRALES NOIRATRES entortillées, dépassant souvent les bords de la colonie et lui donnant un aspect festonné, à bords ondulés assez caractéristiques.

Agar de Deycke.

Deycke ([1]) a recommandé l'emploi d'un milieu spécial pour l'examen des angines diphtériques : il se compose de 1 °/₀ d'albuminate alcalin, 1 °/₀ de peptone, $\frac{1}{2}$ °/₀ de sel, 2 °/₀ d'agar et 5 °/₀ de glycérine.

Les albuminates alcalins qui servent à la préparation de ce milieu de culture, s'obtiennent de la façon suivante :

Introduire dans un ballon 1 kilogramme de viande de veau finement hachée et sans graisse, y ajouter 1200 c. c. d'une solution de potasse à 3 °/₀ et agiter violemment.

Laisser à l'étuve à 37° pendant deux jours, puis chauffer au bain-marie à 60°-70° pendant quelques heures : filtrer.

On obtient de cette façon un filtrat brun

([1]) DEYCKE, *Weitere Erfahrungen über die Bedeutung von Alkali-albuminaten*. (DEUTSCHE MED. WOCHENSCHR., 1894, n° 25.)

foncé, auquel on ajoute, avec précaution, de l'acide chlorhydrique pur qui précipite les albuminates : ceux-ci sont recueillis sur un linge fin, agités dans l'eau distillée et amenés à une dissolution partielle, par l'addition d'une solution saturée de soude caustique, jusqu'à réaction nettement alcaline. La dissolution complète des substances albuminoïdes s'obtient par l'ébullition dans le poële à vapeur, ébullition qu'on doit prolonger pendant quelques heures. Il suffit alors de corriger la réaction : celle-ci doit être autant que possible neutre ou très légèrement alcaline.

On peut calculer exactement le contenu en matières solides du liquide brun foncé obtenu, en l'évaporant à l'étuve à 100° et il est possible dès lors de le diluer à volonté dans l'eau distillée, en partant du chiffre obtenu après évaporation.

On peut également faire sécher au bain-marie et on obtient, après pulvérisation, une poudre très fine, d'un brun clair. On dissout simplement cette poudre dans la quantité nécessaire d'eau distillée.

Sur ce milieu, les streptocoques poussent très mal et permettent de reconnaître très rapidement les colonies de diphtérie qui ont pu se développer lorsque la plaque a été déposée à l'étuve à 37° pendant un jour.

Nous n'entreprendrons pas de décrire l'aspect de toutes les bactéries qu'on peut rencontrer dans les cas d'angines chez l'homme : elles varient à l'infini ; mais les trois espèces dont nous venons d'esquisser les caractères distinctifs sont celles qui se retrouvent le plus souvent et dont les rapports, variables entre eux, font varier également le pronostic et la marche de l'affection. On sait que la combinaison la plus grave, l'union des streptocoques et des bacilles diphtériques, produit la maladie appelée en clinique la *diphtérie septique*, dont l'évolution, parfois foudroyante, très souvent mortelle, n'est malheureusement que peu influencée par les injections de sérum antidiphtérique.

Méthode des inoculations.

III. *Inoculations aux cobayes.* — Pour faire un examen tout à fait complet, et spécialement dans les cas douteux, où les colonies de diphtérie sont rares, on fait une culture pure de la bactérie suspecte dans du bouillon (*2 à 5 c. c. suffisent*), qu'on laisse quarante-huit heures à l'étuve à 37°, et on inocule au cobaye 10 ou 20 centigrammes sous la peau du dos, après avoir constaté que la culture est pure.

Si l'animal succombe en deux ou trois jours, avec les symptômes caractéristiques que nous avons décrits précédemment, on a la preuve cer-

taine que le malade est bien diphtérique et que les fausses membranes étaient dues aux bacilles spécifiques.

Rien n'est plus simple que de faire cet essai de virulence sur les cobayes, et nous ne suivrons pas l'avis de M. Plaut ([1]) qui, dans un article récent, déclare que « l'injection sous-cutanée au cobaye » n'est pas recommandable, à cause de l'épaisseur » de la peau de ces animaux qui se laisse diffici- » lement traverser par les canules d'une seringue » de Pravaz ! »

Caractères du bacille diphtérique.

Le bacille de Löffler se présente sous des aspects très variables ; ses transformations sont généralement dues à des changements de réaction des milieux de culture. Il se trouve tantôt à l'état de bacille court et possède alors une tendance à se disposer en séries parallèles, tantôt à l'état de bacille allongé et se dispose cette fois en V, à angle aigu, en formes intriquées. L'orientation véritablement caractéristique des bacilles de la diphtérie est telle qu'ils ne se trouvent jamais sur le prolongement l'un de l'autre. En outre,

Aspect caractéristique du bacille de Löffler.

([1]) PLAUT, *Studien zur bakter. Diagnost. der Diphterie.* (DEUTSCHE MED. WOCHENSCHR., 1894, n° 49.)

ils se présentent généralement en petits amas de dix à quinze éléments, formant des groupes isolés.



Fig. 4. — Préparation d'une culture pure de bacilles de Löffler. (Grossisst : Zeiss, obj. $^1/_{12}$, imm. homog., ocul. II.)

Le bacille diphtérique est généralement arrondi à l'une de ses extrémités, qui est plus épaisse que le corps même de la bactérie, et pointu à l'autre extrémité.

Cette forme peut différer dans de grandes limites : tantôt l'extrémité arrondie s'effile elle-même et nous nous trouvons en présence d'un véritable fuseau, tantôt l'extrémité pointue s'efface et nous n'avons plus qu'un bacille régulièrement

allongé. Toutes ces variations morphologiques sont très fréquentes et dépendent probablement, comme nous le disions plus haut, de la réaction des milieux dans lesquels le bacille s'est développé.

Les variétés du bacille diphtérique.

On a cru longtemps que les caractères assignés par Löffler au bacille de la diphtérie étaient tellement précis qu'il n'avait pas son semblable et qu'il n'y avait aucune bactérie se rapprochant assez de ces caractères pour rendre le diagnostic douteux. On a dû pourtant créer depuis lors un véritable groupe de bactéries analogues à la bactérie diphtérique, comme on a créé le groupe des vibrions analogues à celui du choléra. De tous les caractères attribués au bacille de Löffler, un seul lui reste, absolument spécial, tout à fait pathognomonique : c'est son action pathogène sur les animaux. Les autres bactéries du groupe ne possèdent pas cette propriété. Parmi les bactéries décrites comme faisant partie du groupe des bacilles analogues au bacille de la diphtérie, identifiées même souvent avec lui, la plus connue est le bacille décrit en 1887 par Hoffmann sous le nom de BACILLE PSEUDO-DIPHTÉRIQUE. Il se trouve dans la gorge de personnes bien portantes aussi bien que chez les malades ; il est plus court et plus gros que le bacille de Löffler ; il pousse très facilement sur agar, abondamment même, tandis

Le bacille de Hoffmann.

que l'autre s'y développe relativement moins bien. Enfin, son innocuité pour les cobayes est caractéristique. Injecté à ces animaux sous la peau du dos, à des doses énormes, 3 et 4 c. c., il ne produit aucun symptôme, ni local ni général.

Ces observations nouvelles de Hoffmann (1) ont été confirmées par Babes (2), par Orthmann, par Zarnico (3) : celui-ci a même mis en évidence le fait que le bacille de Hoffmann n'acidifie pas le bouillon, comme le bacille de Löffler, dans les premiers jours de son développement.

En France, on a nié jusqu'ici l'existence du bacille pseudo-diphtérique. Celui-ci ressemble, par ses caractères généraux, au bacille décrit par Martin sous le nom de bacille court, et considéré par lui comme une simple variété du bacille diphtérique, le criterium de l'action pathogène ne suffisant pas, d'après cet auteur, à séparer nettement l'une de l'autre deux bactéries dont les caractères extérieurs et dont les réactions biologiques se ressemblent au plus haut point.

En Allemagne, on est partisan, en général, de

(1) HOFFMANN WELLENHOF, *Untersuchungen über den Klebs-Löffler'schen Bacillus.* (WIENER MED. WOCHENSCHR., 1888, nos 3 et 4).

(2) BABES, *Zeitschr. f. Hyg.*, Bd V, 1889.

(3) ZARNICO, *Beitrage zur Kenntniss des Diphteriebacillus.* (CENTRALBL. F. BAKTER., Bd VI, 1889, nos 6 et 8.)

Différenciation des deux bactéries.

la différenciation absolue des deux bactéries : Löffler a encore été très catégorique à cet égard au Congrès de Budapest. Le fait qu'il n'a pas été possible jusqu'ici de rendre le bacille de Hoffmann virulent et pathogène, tandis qu'il est TOUJOURS possible de rendre un bacille diphtérique vrai, même très atténué, virulent et pathogène, ce fait plaide évidemment en faveur de la différenciation.

Voici les caractères différentiels autres que l'on peut signaler entre ces deux bacilles.

Caractères biologiques.

Sur *sérum coagulé*, le bacille pseudo-diphtérique pousse parfaitement, comme le bacille diphtérique vrai ; les quelques caractères différentiels mis en avant pour les distinguer sur ce milieu, tels que la couleur blanche des colonies, l'aspect plus humide et la croissance aplatie, ne suffisent pas pour les distinguer.

Sur *agar*, le bacille pseudo-diphtérique pousse très abondamment; déjà au bout de dix-huit à vingt-quatre heures, on constate à l'œil nu des points blanchâtres, humides, à contours réguliers. Dans les tubes d'agar, on a observé une coloration brun foncé du milieu de culture qui s'étend de la superficie vers la profondeur et serait produite par le bacille (Escherich) ; cette pigmentation ne se retrouve jamais pour la diphtérie vraie.

Sur *gélatine,* contrairement au bacille de Löffler, qui demande une température d'au moins 37° pour se développer, le bacille de Hoffmann croît admirablement, comme le signalent Zarnico et Escherich.

Dans le *bouillon,* le bacille pseudo-diphtérique produit un trouble abondant au bout de vingt-quatre heures ; ce trouble persiste plus longtemps que dans la diphtérie vraie, est également plus prononcé et apparaît plus tôt.

Le signe caractéristique pour le bacille de Hoffmann, c'est que ce dernier ne rend jamais le bouillon *acide* et que deux ou trois jours après l'ensemencement, l'alcalinité du milieu est fortement augmentée, tandis qu'à ce moment, le bacille diphtérique rend les bouillons nettement acides.

Caractères morphologiques.

Au point de vue de la *morphologie,* Escherich a signalé qu'on pouvait rencontrer, pour le bacille de Hoffmann, le même polymorphisme que pour la diphtérie vraie ; il mesure généralement 1,5 à 2 μ de long sur 0,5 à 0,6 μ de large. Les bacilles affectent de préférence la disposition parallèle, qui est plus constante ici que pour la diphtérie et qui a été signalée depuis longtemps par Martin. Le bacille de Hoffmann ressemble, comme nous l'avons dit, par la plupart de ses caractères, au bacille « court » de Martin, qui,

d'après les auteurs français, ne constitue qu'une variété de la diphtérie vraie.

Le caractère distinctif principal entre la diphtérie et la pseudo-diphtérie, c'est l'innocuité absolue de cette dernière vis-à-vis des cobayes; Escherich a injecté jusqu'à 4 c. c. de bouillon en vingt-quatre heures à des cobayes, sans que ceux-ci aient présenté aucun symptôme morbide: c'est ce qui a fait considérer jusqu'ici les deux espèces comme différentes par la plupart des auteurs qui se sont occupés de la question au point de vue expérimental.

La fréquence de la pseudo-diphtérie.

Quant à la fréquence avec laquelle la pseudo-diphtérie se rencontre, rappelons ici que Hoffmann a retrouvé dans la bouche d'un grand nombre de personnes un bacille pseudo-diphtérique, assez analogue à celui de la diphtérie, mais qui semble néanmoins s'en distinguer de prime abord par sa forme plus épaisse et plus courte et par sa croissance abondante sur agar.

Sur 45 personnes examinées, n'ayant pas la diphtérie, l'auteur l'avait retrouvé 26 fois. Löffler a confirmé ces recherches. Beck (1) a cultivé le bacille pseudo-diphtérique 22 fois sur 66 cas,

(1) Beck, *Bacteriol. Unters. über die Ætiologie der Diphtherie.* (Zeitschr. f. Hyg., Bd VIII, 1890.)

chez des enfants bien portants. Feer [1], cité par Escherich, s'étonne que beaucoup d'auteurs rencontrent le bacille pseudo-diphtérique si souvent, chez les malades comme chez les personnes bien portantes, tandis que d'autres ne le rencontrent presque jamais. Dans quatre cas rapportés par Feer, le bacille pseudo-diphtérique a pu être diagnostiqué comme tel, même avant toute recherche de virulence, par sa forme épaisse et peu allongée, par son développement rapide sur agar et par la persistance de l'alcalinité des bouillons.

CHAPITRE IX.

L'ÉTIOLOGIE ET LA PATHOGÉNIE DES ANGINES AU POINT DE VUE BACTÉRIOLOGIQUE.

Classification bactériologique.

Grâce aux progrès de la bactériologie, on commence à entrevoir l'étiologie et la classification rationnelle des angines pseudo-membraneuses.

A chaque bactérie, à chaque agent étiologique spécial correspond une évolution clinique également spéciale, avec un pronostic et un traitement

(1) Feer, *Ætiol. und klin. Beitrage zur Diphtherie*, 1894, Basel.

particuliers. Il résulte des derniers travaux publiés sur l'étiologie des angines pseudo-membraneuses et les symptômes cliniques de ces diverses affections, qu'un diagnostic de diphtérie ne peut être posé avec certitude sans un examen bactériologique complet des mucosités ou des membranes qui tapissent la gorge du malade. Les symptômes, surtout au début, sont presque identiques dans la plupart des cas et ne permettent pas une différenciation rigoureuse entre les affections *diphtéroïdes* dues à des bactéries secondaires (staphylocoques et streptocoques) et les processus spécifiques reconnaissant pour cause l'agent étiologique de la diphtérie.

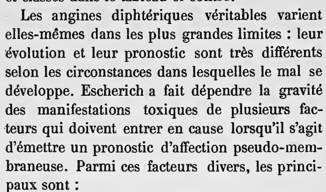
Affections diphtéroïdes.

Les affections pseudo-membraneuses qui ne sont pas dues au bacille de Löffler offrent presque toujours un pronostic favorable : elles guérissent d'elles-mêmes, quel que soit le mode de traitement institué ; il ne saurait être question ici d'une action quelconque du sérum antidiphtérique, comme Denys a voulu le démontrer dans un travail récent (1). Ainsi que Martin l'a fait ressortir précédemment, sur vingt-neuf cas d'affections diphtéroïdes non spécifiques, on ne constate aucun décès, alors que septante angines

(1) DENYS, *Le sérum dans le traitement de la diphtérie*. Louvain, 1895.

vraies, bactériologiquement reconnues, donnent 40 % de mortalité.

Nous croyons intéressant de reproduire ici le résumé de cent nonante-huit cas d'angines et de croups examinés par MM. Chaillou et Martin (1) et classés dans le tableau ci-contre.



Variétés de diphtéries.

Les angines diphtériques véritables varient elles-mêmes dans les plus grandes limites : leur évolution et leur pronostic sont très différents selon les circonstances dans lesquelles le mal se développe. Escherich a fait dépendre la gravité des manifestations toxiques de plusieurs facteurs qui doivent entrer en cause lorsqu'il s'agit d'émettre un pronostic d'affection pseudo-membraneuse. Parmi ces facteurs divers, les principaux sont :

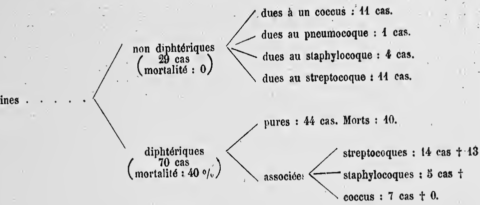


1° Le nombre des bacilles qui pullulent à l'endroit affecté et l'étendue des lésions de la muqueuse.

2° Le degré de la virulence de ces bactéries, c'est-à-dire la quantité de toxine qu'elles ont le pouvoir de répandre dans l'économie en un temps donné. (On pense en général que les cas à évolution grave dépendent de bacilles très virulents, mais la réciproque n'est pas vraie.)

(1) CHAILLOU et MARTIN, *Étude clin. et bactér. sur la diphtérie.* (ANN. DE L'INST. PAST., 1894, n° 7.)


Classification bactériologique des angines et des croups.


1° Angines . . . . .
non diphtériques (29 cas mortalité : 0)
dues à un coccus : 11 cas.
dues au pneumocoque : 1 cas.
dues au staphylocoque : 4 cas.
dues au streptocoque : 11 cas.
diphtériques (70 cas mortalité : 40 %)
pures : 44 cas. Morts : 10.
associées
streptocoques : 14 cas † 13
staphylocoques : 5 cas †
coccus : 7 cas † 0.
2° Croups . . . . .
non diphtériques : 7 cas † 1.
diphtériques : 85 cas † 55.

3° Le pouvoir de résorption des poisons par les parties lésées de la muqueuse.

4° La résistance individuelle vis-à-vis de la toxine et peut-être la fonction antitoxique du sérum sanguin.

Cette propriété spéciale du sérum est faiblement développée chez les enfants, tandis qu'elle offre des qualités beaucoup plus énergiques chez l'adulte où l'on rencontre souvent des bactéries très virulentes sur la muqueuse du pharynx et les amygdales sans observer de symptômes quelconques de maladie.

Nous aurons l'occasion de revenir plus loin, au chapitre de la prophylaxie, sur les travaux récents (Abel, Wassermann) qui ont mis ces questions intéressantes à l'ordre du jour.

Évolution clinique de la diphtérie.

Pour la diphtérie comme pour la plupart des maladies infectieuses, il existe entre le moment probable de l'infection et l'apparition des symptômes, un stade d'incubation qui dure deux ou trois jours, parfois six ou sept jours. Les premiers signes sont les manifestations banales de l'infection : telles la céphalalgie, la rachialgie, l'élévation de la température et une sensation générale de malaise. Il peut se faire que les premiers symptômes soient plus caractéristiques : on constate alors que le malade avale difficilement et se plaint de douleurs dans le pharynx;

les amygdales sont gonflées, très rouges et on aperçoit à leur surface de petites masses blanchâtres, arrondies, qui restent isolées ou ne tardent pas à se confondre et à envahir toute l'arrière-gorge. Il arrive qu'à cette période déjà, les ganglions sous-maxillaires soient engorgés et douloureux. L'appareil respiratoire est bientôt entrepris sérieusement, en particulier dans les salles d'hôpital, lorsque l'isolement du malade ne peut se faire et que les conditions générales d'hygiène ne sont pas remplies avec tous les soins désirables. La fréquence des broncho-pneumonies et l'influence de ces dernières sur la mortalité élevée qu'on constate dans certains services hospitaliers sont dues à la contagion réciproque par les streptocoques, qui, passant d'un malade à l'autre, viennent très souvent aggraver le cours de l'affection, non compliquée au début, et résistent tout naturellement au nouveau traitement sérothérapique, qui n'a qu'une influence limitée sur leur évolution.

La rhinite fibrineuse.

On voit assez souvent s'écouler des narines un exsudat jaunâtre, dont on avait fait le symptôme d'une maladie spéciale, la rhinite fibrineuse, rhinite qu'on est unanime actuellement à faire rentrer dans le cadre des manifestations localisées de la diphtérie. Bientôt la respiration s'accélère, devient

difficile. Une véritable dyspnée et du « tirage » s'établissent à ce moment.

Les symptômes observés jusqu'ici sont des symptômes qui dépendent plutôt de la lésion locale, du développement des fausses membranes sous l'influence du bacille de Löffler. A cette période de la maladie apparaît un autre ordre de phénomènes : les manifestations de l'intoxication due à la résorption du poison produit localement par les bacilles.

Intoxication générale.

Parmi ces manifestations, qui sont celles qu'on espère pouvoir combattre le plus aisément par la sérothérapie, la plus dangereuse, celle qui menace directement l'existence du malade, c'est la myocardite, qui aboutit à une dégénérescence graisseuse des fibres musculaires du cœur. Cette altération cardiaque doit se rattacher directement à l'intoxication et peut, du reste, être constatée chez les animaux auxquels on a injecté une dose mortelle de poison diphtérique.

La manifestation la plus dangereuse après celle-ci, c'est l'albuminurie, qui peut s'établir dès le début et présente les plus grandes variations dans son intensité et dans sa durée.

Comme manifestation ultérieure de l'intoxication, nous devons encore signaler les paralysies post-diphtériques, dues généralement à une névrite périphérique et dont le pronostic est très variable; nous verrons plus loin que depuis

l'application des méthodes sérothérapiques, leur fréquence semble notablement diminuée.

Dans un cas de diphtérie pure, l'action locale et mécanique due à la présence des fausses membranes étant mise à part, le danger réside donc surtout dans l'intoxication plus ou moins rapide de l'organisme par la résorption continuelle du poison diphtérique produit localement et en quantité plus abondante à mesure qu'on s'élève dans l'échelle de virulence des bacilles.

Action locale des bacilles.

L'action locale de ces bactéries a cependant une grande importance et ne doit pas être perdue de vue, de même que leur propagation possible dans les organes internes. On a été trop porté, dans ces dernières années, à opposer d'une façon absolue aux maladies infectieuses agissant par la présence directe des bactéries, les maladies toxiques pures, où l'agent infectieux ne pénètre pas dans l'organisme. Des travaux dignes d'attention ont cependant signalé la présence du bacille de Löffler dans les organes internes. C'est ainsi que Frosch (1) a retrouvé dix fois sur quinze cas examinés le bacille de Löffler dans le sang du cœur, dans le foie, la rate, les reins, les poumons et même le cerveau. Escherich a décelé

(1) Frosch, *Die Verbreitung der Diphtheriebacillen im Körper des Menschen.* (Zeitschr. f. Hyg., Bd XII, t. I.)

sa présence dans les reins de deux enfants ayant succombé à la suite d'une angine diphtérique simple.

Les diphtéries associées.

A côté de ces cas de diphtérie pure, on a beaucoup étudié, tant au point de vue expérimental qu'au point de vue clinique, les affections dites à *associations microbiennes*. D'autres bactéries, généralement des staphylocoques ou des streptocoques, viennent ajouter leur action nocive au processus diphtérique.

Le danger de ces infections mixtes, surtout celles auxquelles s'associent les streptocoques, réside dans le passage des bactéries dans les ganglions et même dans la circulation, où ils produisent les plus grands ravages et quelquefois une septicémie rapidement mortelle.

Neumann a montré, dans un travail intéressant, l'influence des toxines microbiennes répandues dans l'économie, sur la résistance de l'organisme contre l'invasion des streptocoques.

L'action de ces streptocoques vient se surajouter au processus local et général qui reconnaît pour cause le bacille de Löffler ou ses produits toxiques, et forme un tableau morbide tout spécial, auquel on a donné le nom de *diphtérie septique*.

Diphtérie septique.

Le symptôme le plus caractéristique de cette affection et celui qui met le plus rapidement

la vie en danger, c'est la dégénérescence progressive et rapide du muscle cardiaque; l'action réciproque et intime des deux micro-organismes l'un vis-à-vis de l'autre, est évidente dans ces cas, qui se terminent en général par la mort; nous avons eu l'occasion de parler plus haut des expériences qui ont voulu éclaircir ce rapport symbiotique des deux éléments bactériens. Il semble que l'évolution du streptocoque une fois commencée, le nombre des bacilles diphtériques baisse rapidement, les fausses membranes diminuent de volume et l'affection se termine par une véritable septicémie, où la diphtérie ne semble plus jouer qu'un rôle secondaire.

Quant aux staphylocoques, leur action est beaucoup plus obscure, quoiqu'on puisse constater assez souvent leur présence dans les exsudats pseudo-membraneux. Leur pénétration dans les organes internes est considérée comme très rare et leur influence semble se réduire à une action locale que les travaux expérimentaux ne sont pas parvenus jusqu'ici à mettre clairement en évidence.

Kossel a également signalé dans ces associations microbiennes la présence d'anaérobies dont l'influence est intimement liée à l'évolution de cas d'angines se terminant par la gangrène des parties lésées.

Lésions des organes.

A mesure que la maladie progresse, nous voyons s'établir les complications du côté des organes internes : la néphrite, la myocardite et aussi les paralysies, qui ont fait l'objet de travaux très complets. Bourges (1) a signalé récemment l'existence d'une paralysie non diphtérique, dans une angine à streptocoques. Cette paralysie a présenté les mêmes caractères que celles qui succèdent à la diphtérie, atteignant successivement les muscles moteurs de l'œil, le voile du palais et les membres inférieurs. Gubler, d'ailleurs, avait toujours défendu l'existence de paralysies consécutives à des angines non diphtériques. Son opinion se trouve confirmée actuellement par les examens de cultures.

Telles sont, examinées au point de vue de la bactériologie, les formes cliniques de la diphtérie. Dans ces derniers temps, l'attention s'est éveillée à cet égard et cet éveil fournira des résultats curieux.

La diphtérie larvée.

Ainsi une forme clinique de diphtérie, fort intéressante, a été étudiée par Heubner (2), sous le nom de *diphtérie larvée*. Il y a, d'après l'auteur,

(1) BOURGES, *Paralysie conséc. à une angine non dipht.* (ARCH. MÉD. EXPÉR., 1895, n° 1.)

(2) HEUBNER, *Jahrbuch für Kinderheilkunde*, t. VI, p. 105. — *Ueber larvirte Diphtherie.* (DEUTSCHE MED. WOCH., 1894, n° 50.)

des cas de diphtérie qui échappent, même à l'observateur le plus attentif; ils restent ignorés souvent pendant une partie de leur évolution, quelquefois même jusqu'à la mort. Ils sont plus fréquents à l'hôpital qu'en ville et atteignent plutôt des enfants chétifs ou déjà malades. On n'avait rien remarqué de spécial, et tout à coup une sténose du larynx apparaît, avec des symptômes foudroyants.

Lorsque des changements subits se remarquent dans l'état d'un enfant de constitution faible, avec des symptômes de catarrhe et de la fièvre, il est à recommander de faire l'examen bactériologique des mucosités de l'arrière-gorge, et peut-être un diagnostic précoce permettra-t-il d'influencer favorablement le cours si brusque et si inattendu de l'affection.

CHAPITRE X.

LA TECHNIQUE DE L'INJECTION.

Précautions antiseptiques.

L'injection de sérum antidiphtérique doit être faite en s'entourant de toutes les précautions de l'asepsie la plus rigoureuse.

On se servira de préférence de *seringues* spéciales d'une contenance de 10 à 20 c. c., stérili-

sées dans une solution de soude à 1 %, portée jusqu'à l'ébullition pendant cinq minutes. Un lavage soigneux de la seringue avec une solution d'acide phénique à 0.5 % peut également convenir.



Fig. 5. Seringue à piston d'amiante.

Fig. 6. Seringue de Koch.

Il y a plusieurs modèles employés actuellement; les plus usités sont :

Seringues. 1° La seringue de Koch, à ballon aspirateur en caoutchouc, qui a le grand avantage, n'ayant pas de piston, d'être la seringue aseptique « idéale ».

Son maniement nécessite cependant un peu d'habitude; c'est celle dont nous nous servons de préférence.

2° La seringue de Roux, qui se compose d'un corps de pompe tout en verre, maintenu dans une armature de métal, et d'un piston muni de rondelles en caoutchouc d'un changement facile.

Pour éviter les accidents, lors de mouvements ments brusques de l'enfant pendant l'injection, la seringue est pourvue d'un ajutage en caoutchouc, pièce intermédiaire qui se place entre le corps de pompe et l'aiguille.

3° La seringue a piston d'amiante, de 10 c. c., est également un instrument fort pratique : le piston peut se serrer à volonté grâce à une pièce mobile à l'intérieur de la tige qui sert à le retirer.

La seringue de Koch et la seringue à piston d'amiante se trouvent dans le commerce, contenues dans un étui métallique qui permet la stérilisation préliminaire dans l'écrin.

Endroits de l'injection.

L'endroit du corps où se fait la piqûre est sans importance aucune : l'injection se pratique soit dans le flanc, soit à la partie antérieure du thorax, sous la clavicule, soit à la partie externe de la cuisse. Il est recommandable de faire cette injection à une partie antérieure ou latérale du corps, sur laquelle l'enfant ne repose pas ; nous la pratiquons en général à la partie antéro-externe

de la cuisse : c'est un endroit facilement accessible et où la peau se laisse suffisamment distendre pour l'opération.

Précautions antiseptiques.

Avant de faire l'injection, on prend les précautions antiseptiques nécessaires : la peau est lavée à l'eau chaude et au savon, avec une brosse rude; on passe ensuite à l'alcool, qui peut être remplacé par une solution antiseptique quelconque (sublimé, acide phénique, etc.).

Il est recommandable de ne pas *masser* la voussure qui se forme après l'injection : la résorption du sérum se fait très rapidement, sans qu'il soit nécessaire d'intervenir.

Lorsque la seringue, dont on a préalablement constaté le bon fonctionnement, est chargée du liquide à injecter et lorsque la région choisie pour l'opération est préparée, on saisit la peau entre le pouce et l'index de la main gauche, et dans la base du pli cutané ainsi formé, on introduit l'aiguille, qu'on doit s'appliquer à laisser dans le tissu cellulaire sous-cutané; on pousse l'injection lentement, et la voussure qui se forme indique si l'opération est bien pratiquée : cette voussure doit être arrondie et tout à fait régulière, si l'aiguille est convenablement placée.

Après avoir retiré celle-ci, on applique sur la petite ouverture un tampon d'ouate ou du collo dion iodoformé.

La dose de sérum qu'on injecte est loin d'être indifférente et doit varier selon les circonstances: il ne suffit pas, comme on l'a prétendu récemment, «de débuter impunément par une injection » d'antitoxine de 20 c. c. de sérum de Roux ou » de 10 c. c. de l'un des trois sérums de Behring et de se contenter d'observer les événements ! » Importance de la dose.

Le rôle du médecin en présence d'un cas de diphtérie doit être beaucoup plus actif : les dernières statistiques ont démontré l'importance d'injecter une dose *suffisante* d'antitoxine, d'après la gravité du cas à traiter.

Cette dose varie suivant le moment de la maladie auquel on se trouve, d'après l'état du processus local, l'existence d'une infection secondaire, l'âge de l'enfant, etc., etc. Les meilleurs résultats ont été obtenus dans les services hospitaliers qui ont employé le sérum le plus concentré; les premières applications de la sérothérapie à Berlin n'avaient pas donné des résultats très encourageants : on n'injectait à cette époque que 100 à 200 unités Behring, alors qu'actuellement on en injecte 1,000 à 1,500 au minimum.

Roux a insisté, dans son intéressante communication au Congrès de Budapest, sur l'emploi de doses variées de sérum selon la gravité des cas. Il recommandait pour les angines diphtériques Sérum de Roux.

pures, deux ou trois injections représentant 40 à 50 c. c. de sérum, et pour les angines à association, trois ou quatre injections correspondant à environ 75 c. c. Il a rapporté l'histoire d'un malade qui avait reçu en tout 205 c. c. de sérum. Ces doses, qui peuvent paraître énormes, ne sont plus nécessaires actuellement qu'on possède presque partout un sérum antitoxique beaucoup plus actif que celui qui était employé l'année dernière.

Sérum de Behring.

Le sérum injecté en Allemagne est fourni par la fabrique de Höchst-sur-le-Mein (Meister Lucius et Brüning) et délivré sous le contrôle d'une commission officielle gouvernementale, chargée de vérifier la valeur du sérum.

Il existe trois numéros de ce sérum, qui sont :

Le n° I, contenant 600 unités Behring dans 10 c. c., — ou dose thérapeutique simple, — qui suffit pour de tout jeunes enfants, et lorsque le traitement est commencé dès l'apparition des premiers symptômes, au premier ou au second jour de la maladie ;

Le n° II, contenant 1,000 unités dans 10 c. c., et

Le n° III, contenant 1,500 unités par dose, qui sont recommandés pour les cas graves, pour les malades qui ne sont pas traités au début de l'affection, ou lorsque le larynx se trouve entrepris d'une façon quelconque.

Doses à injecter

Chez les adultes, ces doses sont insuffisantes; il est recommandable de répéter l'injection au moins une fois, six à douze heures après la première; il en est de même pour les enfants au-dessus de 5 ans.

Il est nécessaire de faire remarquer que si une forte dose d'antitoxine convient dans certains cas pour obtenir un résultat favorable, il ne faut cependant pas dépasser certaines limites, comme nous l'avons vu faire récemment : la dose de 5 centigrammes d'acide phénique que contient chaque flacon de sérum est absolument inoffensive, même si cette dose est doublée, comme il résulte des travaux qui se publient actuellement sur la question : on n'a observé nulle part d'accidents directement attribuables à l'acide phénique et, grâce à cette addition du corps antiseptique, la conservation du sérum est assurée, ce que l'on ne peut affirmer avec les autres méthodes. La quantité d'acide phénique pourrait cependant devenir moins inoffensive, lorsqu'on exagère le nombre des injections : nous connaissons des cas où on a été jusqu'à injecter cinq et six flacons pendant cinq jours consécutifs, chez des enfants au-dessous de 2 ans !

Si l'influence locale et générale du sérum ne s'est pas manifestée après une seconde injection de 1,000 unités chez un enfant en bas âge, et

après une troisième injection chez un adolescent ou un adulte, on peut affirmer qu'il existe une complication contre laquelle le sérum n'a plus d'action, et il est dès lors inutile de continuer les injections qui restent sans résultat, si même elles ne nuisent pas.

CHAPITRE XI.

—

LES EFFETS DE L'INJECTION DE SÉRUM.

Influence sur l'état général.

Un des effets rapides de l'injection de sérum antidiphtérique, qui a frappé tous ceux qui ont employé le nouveau remède, c'est l'amélioration brusque de l'*état général :* on assiste, la plupart du temps en quelques heures, à une transformation complète dans l'état du malade. Kossel a bien mis en évidence ce changement rapide qu'on constate lorsque le médicament est appliqué à temps et à dose suffisante.

Influence sur la température.

Température. — Heubner, qui a établi, d'après des observations antérieures à la sérothérapie, la courbe thermique de la diphtérie à évolution normale, a étudié récemment les modifications que le sérum imprime à ce type spécial.

Dans la diphtérie normale, la courbe de la température est caractérisée par une ascension

brusque, durant un ou deux jours, suivie d'une chute à laquelle succède, vers le cinquième jour, une nouvelle ascension, coïncidant avec l'apparition des manifestations laryngées et des accidents secondaires. Dans la diphtérie traitée par le sérum antitoxique, l'ascension thermique secondaire fait défaut.

Il arrive très fréquemment que la température tombe en *crise*, descendant en vingt-quatre heures de 40° à la normale.

Dans les diphtéries laryngées, la descente s'opère un peu moins vite, souvent en trois ou quatre jours. La crise thermique est particulièrement fréquente quand la diphtérie est pure, non compliquée de micro-organismes secondaires. Behring a même affirmé que lorsque la dose de sérum injecté a été suffisante et lorsque la maladie n'est pas arrivée à un stade trop avancé, si la température ne descend pas, on peut déclarer *a priori* qu'on se trouve en présence d'un cas à infection mixte, où le sérum n'a plus qu'une action très limitée.

On a signalé parfois une légère augmentation de la température quelques heures après l'injection : nous croyons que cela est généralement dû à ce fait que la température a été prise plus tard, vers le soir, c'est-à-dire au moment où une exacerbation d'un et même de plusieurs degrés est la règle.

Action sur le cœur.

Action sur le cœur. — Heubner a fait des recherches sur les troubles fonctionnels du cœur qui surviennent pendant le cours des angines diphtériques ou après l'évolution du mal, souvent en pleine convalescence. Dans beaucoup de cas graves de diphtérie, on constate des troubles profonds, déjà au bout de la première semaine. Ces troubles sont dus à l'action directe du poison diphtérique sur les fibres musculaires du cœur qui présentent un état de dégénérescence plus ou moins avancé; peut-être pourrait-on invoquer également une action spéciale sur les ganglions cardiaques.

La myocardite diphtérique, décrite par Leyden, est au contraire une manifestation spéciale de l'intoxication qui n'apparaît jamais avant la première semaine, dure environ trois à quatre semaines et se termine en général par la guérison. Les données anatomiques exactes manquent sur ces troubles qu'on rattache communément à une myocardite interstitielle.

Le symptôme le plus à craindre dans les suites de la diphtérie, c'est l'apparition de la paralysie aiguë du cœur qui peut survenir tout à coup dans la convalescence, après une évolution diphtérique grave, mais lorsque la plupart des symptômes locaux ont disparu.

L'action du sérum antitoxique sur ces troubles

cardiaques est encore à l'étude : tandis qu'un certain nombre d'auteurs prétendent avoir constaté une diminution dans la fréquence relative de ces lésions, d'autres, au contraire, refusent d'admettre une influence quelconque de l'antitoxine sur leur apparition.

Martin et Moizard ont constaté que la chute rapide du nombre des pulsations constitue un des phénomènes les plus caractéristiques de l'injection de sérum. Nous avons vérifié, dans un grand nombre d'observations, qu'en même temps que la température s'abaisse, le pouls diminue parallèlement de fréquence : nous aurons l'occasion de revenir plus loin sur ce phénomène intéressant. Action sur le pouls.

Albuminurie. — Roux a constaté que l'albuminurie est moins fréquente et de plus courte durée chez les diphtériques traités par le sérum. Albuminurie.

Baginsky et Moizard ont également observé que la diminution de l'albumine suit une marche à peu près parallèle à la descente de la température et au ralentissement du pouls.

Nous étudierons ces phénomènes au chapitre des accidents rapportés à l'emploi du sérum ; on doit être très réservé dans l'appréciation d'une influence quelconque, bonne ou mauvaise, de l'antitoxine sur le rein.

Nous pensons qu'on n'a pas le droit de mettre sur le compte du sérum un trouble fonctionnel

dont la fréquence et la gravité offrent des variations aussi grandes que la présence de l'albumine dans l'urine au cours des angines spécifiques. En tous cas, il ne peut être question ici d'une action néfaste de l'antitoxine sur les reins. Les faits expérimentaux ont démontré que pour un rein normal, le sérum est absolument inoffensif. En est-il de même pour un rein malade? C'est ce que l'on ne saurait affirmer actuellement : il est possible, comme le dit Escherich, qu'un organe lésé, et déjà malade, laisse passer une petite quantité de l'albumine du sérum injecté. Il est également possible de rencontrer des idiosyncrasies qui, au même titre que les exanthèmes spéciaux et d'autres particularités individuelles bien connues, signalées aujourd'hui, doivent être considérées comme des accidents tout à fait exceptionnels.

Action sur les phénomènes locaux.

Action du sérum sur les phénomènes locaux. — On sait que la diphtérie, dans ses formes absolument localisées, est une affection d'un pronostic plutôt favorable, qui guérit très souvent, même sans sérum, avec un traitement local approprié. Il faut dire que la durée de la maladie est cependant diminuée par l'intervention antitoxique et que le processus local est en quelque sorte arrêté dès les premières heures qui suivent l'injection.

Comme Escherich l'a démontré, le véritable critérium de l'emploi du sérum antidiphtérique

La dissolution des membranes.

se rencontre dans les variétés à allure progressive, où la formation des fausses membranes se fait avec une rapidité fort grande et où cependant les symptômes toxiques généraux ne sont pas très développés. Dans ces formes spéciales, lorsque l'injection est faite à temps, la progression des membranes est subitement arrêtée; l'opération de la trachéotomie, dont l'indication était imminente, devient inutile et le malade guérit en peu de jours.

Les succès sont moins certains lorsqu'il existe déjà au début des symptômes toxiques très graves, de la faiblesse du cœur, de l'albuminurie, etc., et dans les affections septiques, où le streptocoque joue le rôle principal.

On a insisté sur l'effet local du sérum antitoxique ; beaucoup d'auteurs ont signalé que les membranes se détachaient aisément et étaient rejetées avec plus de facilité. Sur cent quatre cas guéris à la suite d'injections de sérum, Kossel a observé soixante-douze fois que les membranes étaient détachées dans les quatre premiers jours qui suivaient l'injection.

Roux a remarqué de même que les membranes disparaissent souvent après trente-six à quarante-huit heures, au plus tard le troisième jour.

Martin a décrit le changement d'aspect des fausses membranes ; celles-ci deviennent blanchâ-

tres, de grises qu'elles étaient avant l'injection, et se détachent très rapidement.

Action locale dans la diphtérie oculaire.

L'action locale du sérum a pu être constatée de visu, dans les cas de diphtérie oculaire dont nous aurons bientôt l'occasion de parler. Dans ces circonstances, le sérum a empêché la formation des cicatrices qui suivent toujours l'élimination des exsudats du globe oculaire. Nous manquons malheureusement d'observations anatomo-pathologiques exactes sur cette question. Il serait intéressant de démontrer anatomiquement les effets du sérum sur la dissolution des membranes, action qui a été signalée par beaucoup d'auteurs.

Arrêt du processus diphtérique.

Kossel, Katz, Baginsky et Bokai ont même noté que la propagation du processus diphtérique au larynx était devenue très rare depuis l'emploi du sérum, lorsque les symptômes de sténose n'existent pas au moment de l'injection.

Quoi qu'il en soit, l'exsudat fibrineux diminue d'épaisseur dès le second jour de l'injection : il prend une coloration blanchâtre en opposition avec la couleur gris sale qu'on observe en général; la dissolution des membranes progresse rapidement; celles-ci se résolvent en un voile léger qui couvre toute l'arrière-gorge et qui disparaît lui-même en peu de temps.

Diphtéries nasales.

Les affections diphtériques du nez, dont nous parlions plus haut, ont également fait le sujet de

nombreuses observations. Bokai a signalé que dans treize diphtéries nasales, il a vu diminuer les sécrétions les plus abondantes en vingt-quatre à quarante-huit heures ; l'odeur caractéristique et si pénétrante diminuait également. L'auteur est persuadé que dans les cas de diphtérie qui se compliquent de localisation au nez, les membranes compactes qui le tapissent dans ces circonstances sont influencées très rapidement par l'action dissolvante du sérum.

Engorgements ganglionnaires.

Ganglions maxillaires.— L'action du sérum sur l'engorgement ganglionnaire sous-maxillaire est tout à fait caractéristique ; c'est un des premiers signes qui suivent son application.

Paralysies post-diphtériques.

Paralysies. — Quant aux paralysies post-diphtériques, nous nous rallions complètement à l'opinion d'Escherich, qui dit que lorsqu'on a eu l'occasion de traiter un assez grand nombre de cas par le sérum, on acquiert l'impression que la durée et la gravité des troubles fonctionnels diminuent beaucoup depuis son emploi.

Il est évident que l'antitoxine ne peut avoir aucune influence sur les lésions anatomiques et que l'application tardive du sérum ne peut pas rétablir un nerf lésé, tel qu'on le rencontre dans les névrites périphériques qui accompagnent souvent la convalescence de la diphtérie.

Kossel avait insisté, dès sa première communi-

cation, sur les réserves qu'il y avait à faire pour juger de l'influence du sérum sur l'apparition des paralysies post-diphtériques.

Meyer, qui a étudié les lésions dégénératives des nerfs périphériques dans la diphtérie aiguë, a trouvé ces lésions déjà développées au troisième jour de la maladie et disséminées dans les nerfs les plus divers : les causes qui produisent ces troubles anatomiques doivent donc agir déjà dans la période de début.

Si le filet nerveux est atteint d'un commencement de dégénérescence avant l'injection de sérum, on ne doit pas s'étonner si la paralysie progresse et s'établit petit à petit, malgré l'antitoxine.

Action du sérum dans la diphtérie oculaire.

Le sérum dans la diphtérie oculaire. — La sérothérapie a été introduite, croyons-nous, dans le domaine ophtalmologique par le professeur Coppez, de Bruxelles, au mois d'octobre 1894. La conjonctivite pseudo-membraneuse due au bacille de Löffler est une affection rare, relativement au nombre total de diphtéries. Elle offre du reste une gravité toute particulière et peut amener rapidement la perte absolue des yeux ; de plus, elle peut gagner, soit par le canal lacrymal, soit par transport extérieur direct, les voies respiratoires supérieures, et aux symptômes oculaires s'ajoute alors le tableau clinique d'une diphtérie

ordinaire. Enfin, maintes fois, les observateurs ont pu voir des enfants atteints de diphtérie oculaire succomber en présentant tous les signes d'une intoxication générale.

Il était donc logique d'appliquer à ces cas la thérapeutique nouvelle. C'est ce qui a été fait, et jusqu'à ce jour [1] deux enfants atteints d'ophtalmie diphtérique, menacés d'infection générale, ont été traités avec plein succès : dès le lendemain de l'injection du sérum, les symptômes généraux avaient disparu, tandis que l'affection locale subissait déjà une rétrocession notable.

Action favorable du sérum.

La sérothérapie semble devoir réussir tout particulièrement dans le domaine ophtalmologique. Le praticien, en effet, est le plus souvent à même de soigner la diphtérie oculaire presque à son début. L'œil de l'enfant rougit, larmoie. Les parents, inquiets, ne tardent pas à consulter un spécialiste. Celui-ci peut poser un diagnostic précoce et dès lors intervenir rapidement, condition essentielle du succès.

Selon la règle, l'ophtalmie diphtérique évolue en trois périodes :

1° Période d'infiltration fibrineuse;

[1] *Journal de la Société des sciences médicales de Bruxelles*, nos 42 et 47, 1894.

2° Période d'élimination des exsudats ;

3° Période de cicatrisation.

Les deux périodes critiques pour l'intégrité du globe sont : la *première,* où il y a menace de nécrose cornéenne par suite de la strangulation vasculaire, et la *dernière,* où il y a toujours à craindre des désordres mécaniques. Parvenait-on à enrayer l'extension et la pénétration de l'exsudat par un moyen quelconque, le jus de citron par exemple, l'affection n'en devait pas moins suivre son cours inexorablement ; l'œil n'échappait aux dangers de la première période que pour retomber dans ceux non moins grands de la dernière.

Au contraire, a-t-on recours à la sérothérapie, les fausses membranes ne tardent pas à disparaître et laissent derrière elles un tissu sain. Il n'y a plus ni période de suppuration ni période de réparation. En définitive, avec la thérapeutique nouvelle, une fois les fausses membranes disparues, l'affection elle-même est définitivement vaincue.

Complications attribuées au sérum.

Complications attribuées à l'injection de sérum. — L'injection de sérum est inoffensive : tel est le fait qui résulte des milliers d'observations dont nous pouvons prendre connaissance dans la plupart des travaux parus.

Évidemment, la sérothérapie compte des adver-

saires, comme toutes les méthodes qui sont à leurs débuts. Ces adversaires ont cru pouvoir mettre sur le compte de l'application du sérum les complications ordinaires de la diphtérie, qui existaient avant l'introduction de la nouvelle méthode et qui sont à rattacher à l'évolution même de la maladie, non traitée à temps.

La démonstration de complications réellement dues au sérum est loin d'être faite et nous ne croyons guère à ces complications mortelles qu'on lui attribue. Pour n'en citer qu'une, nous avons vu relater récemment un cas de néphrite hémorragique dans la diphtérie, consécutivement à l'application du sérum ; la rédaction du journal médical où cette observation a paru, y a spirituellement répondu en publiant en regard « un cas de néphrite hémorragique dans la diphtérie, SANS application de sérum ! »

Si nous nous refusons à rattacher ces accidents graves à l'action du sérum, il en est cependant d'autres, moins importants, mais d'une fréquence suffisante pour devoir nous arrêter : nous voulons parler de l'urticaire et de quelques phénomènes analogues, signalés un peu partout, surtout dans les centres où la sérothérapie a pu être appliquée avec une grande régularité. Urticaire.

Il est probable que l'urticaire est plus ou moins liée à l'espèce animale dont provient le sérum.

On a reconnu que les cas d'urticaire avaient diminué dans les plus grandes proportions depuis l'emploi du sérum de vache et de cheval. Ils étaient plus fréquents pendant l'emploi du sérum de mouton, animal qui avait servi aux premières expériences.

Sa fréquence. Bokai a constaté l'urticaire dans environ 10 °/₀ des cas injectés par lui : le moment de l'apparition de cette complication variait entre le second et le douzième jour ; sa durée était de deux à huit jours. Dans la moitié des cas, il a observé une fièvre plus ou moins intense; l'autre moitié a guéri sans élévation de température.

Quoi qu'il en soit, il est probable que l'urticaire doit être rattachée, non pas à l'antitoxine, mais plutôt directement au sérum. On a signalé quelques cas d'urticaires avec complications fébriles et douleurs articulaires.

Autres complications. On a décrit un érythème multiforme avec fièvre et douleurs articulaires (Lublinski et Scholz), un exanthème hémorragique, également avec douleurs articulaires (Mendel), un érythème avec gonflement ganglionnaire et arthropathies douloureuses (Cnyrim). Mais en présence du nombre relativement restreint des cas de ce genre vis-à-vis du grand nombre d'injections pratiquées jusqu'ici dans tous les pays, on est en droit de conclure que l'antitoxine reste un médicament

absolument inoffensif pour la grande majorité des cas où il est appliqué.

Le traitement local. — Les avis sont partagés quant à l'opportunité d'un traitement local, adjuvant du sérum et appliqué parallèlement à ce dernier. Le traitement local.

Roux proscrit d'une façon absolue tous les badigeonnages avec des substances caustiques ou toxiques. Il recommande l'emploi de lavages à l'eau boriquée, deux ou trois fois par jour; les attouchements avec de la glycérine salicylée ont également donné de bons résultats, et surtout les badigeonnages avec le mélange suivant : Traitement de Roux.

Camphre pulvérisé. . . . . } $\widetilde{\text{aa}}$
Menthol. . . . . }

Le traitement local est important dans tous les cas où la diphtérie n'est pas constatée bactériologiquement. Si les angines à streptocoques, par exemple, ne sont pas traitées énergiquement dès le début, il n'est pas rare qu'on observe des phénomènes de septicémie générale, d'invasion de tout l'organisme par les streptocoques. Le sérum est sans action sur ces affections diphtéroïdes. De même, lorsque les symptômes, la marche de la maladie et l'examen microscopique ont démontré la présence d'une diphtérie septique compliquée de la pullulation de bactéries secondaires à côté Angines non spécifiques.

des bacilles spécifiques, l'application d'un traitement local énergique pourra influencer favorablement le cours de la maladie.

En attendant qu'on puisse également traiter par une méthode spécifique les microbes secondaires qui causent les affections pseudo-membraneuses non diphtériques ou qui compliquent les diphtéries vraies, il paraît logique d'attaquer ces

Traitement de Löffler.

organismes LOCALEMENT. Löffler [1] s'est efforcé de trouver un antiseptique local et paraît avoir réussi à nous donner un remède qui dépasse en efficacité toutes les compositions pharmaceutiques plus ou moins étranges qui ont été proposées pour le traitement local des angines. Ce remède se prescrit de la façon suivante :

R. Menthol. . . . . 10 grammes.
Solve in
Toluol . . . . 36 c. c.
Alcohol. absolut. . . . . . . 60 —
Liquor. ferri sesquichlorati. . . 4 —
M. ad lagenam flavam.

Son application.

L'application se fait au moins toutes les quatre heures, au moyen d'un tampon d'ouate imbibé du remède et après avoir débarrassé la gorge des mucosités qui s'y trouvent. Dans les cas graves, on fait deux applications rapprochées, au lieu

[2] *Die lokale Behandlung der Rachendiphtherie.* (DEUTSCHE MED. WOCH., 1894, nº 42.)

d'une. Le liquide se conserve dans des flacons teintés, bouchés à l'émeri. Le mélange s'est montré extrêmement bactéricide dans les expériences sur les cultures de diphtérie. Chez les malades auxquels Löffler a appliqué son remède, il a pu constater un abaissement rapide de la température; la fréquence du pouls diminue également, quoique moins rapidement que la température. L'état général s'améliore aussi; les membranes changent de consistance, deviennent plus molles et se détachent facilement. La médication doit être continuée tant que l'on ne constate pas la disparition complète de la plus petite parcelle de fausse membrane. Il est important que les applications du remède, surtout au début, soient pratiquées régulièrement et à courts intervalles, jusqu'à ce que la température soit redevenue normale; si la fièvre a complètement disparu, les applications faites le matin, à midi et le soir suffisent parfaitement pour amener la disparition de tous les phénomènes locaux. Ce remède constitue un précieux adjuvant du sérum; tandis que celui-ci exerce une action bienfaisante sur l'organisme tout entier, la solution de Löffler, au contraire, s'attaque à la lésion locale, même si celle-ci n'est pas spécifique, et peut être appliquée avec avantage dans tous les cas sérieux d'angines à fausses membranes, diphtériques ou non.

Les résultats du traitement.

CHAPITRE XII.

LES RÉSULTATS OBTENUS PAR LE TRAITEMENT SÉROTHÉRAPIQUE.

Défauts des statistiques.

Il n'est pas facile actuellement de se rendre un compte exact des avantages que la thérapeutique de la diphtérie pourra retirer de l'application à l'homme de la méthode sérothérapique. On peut affirmer, — les chiffres que nous citons plus loin le prouvent suffisamment, — que la mortalité générale pour les angines et les croups a considérablement baissé dans ces derniers temps : il faut néanmoins tenir compte de l'insuffisance des statistiques générales, des chiffres globaux, pour apprécier les résultats de l'introduction dans la médecine courante d'un nouveau médicament, surtout lorsque ce médicament est appliqué à une maladie aussi variable dans ses manifestations que celle qui nous occupe. Aussi a-t-on senti de prime abord la nécessité de grouper d'une façon rationnelle les malades auxquels le sérum a été injecté, et c'est dans ce but que l'importance du diagnostic bactériologique s'est affirmée et a été si rapidement reconnue; actuellement, il est accepté d'une

façon unanime et on admet qu'il n'est plus possible d'édifier des statistiques scientifiques sans son concours.

Mais si le diagnostic au moyen des cultures a été un progrès très sensible dans l'étude clinique des diphtéries, on est obligé d'avouer cependant qu'il n'est pas tout : on doit aller plus avant encore et grouper les cas, les séparer nettement les uns des autres.

Résultats publiés avant le 1er avril 1895.

Avant de passer en revue les nouvelles méthodes de classification, nous croyons utile de résumer brièvement, dans le tableau ci-après, les principales statistiques qui ont été publiées avant le 1er avril 1895 et qui sont basées pour la plupart sur l'examen bactériologique des fausses membranes.

Malgré l'insuffisance de ces chiffres d'ensemble, on peut se rendre compte que la mortalité générale a beaucoup diminué dans tous les pays : elle est tombée en moyenne de 45 et 50 °/₀ à 10 et 15 °/₀; et cependant, les chiffres que nous rapportons sont basés en général sur des statistiques hospitalières, où les résultats de l'application du sérum doivent nécessairement être moins brillants que dans la pratique médicale courante. On sait qu'à l'hôpital, les enfants atteints de croup sont généralement amenés à la dernière extrémité, ou pour être immédiatement opérés de

TABLEAU

résumant les principales statistiques publiées avant le 1er avril 1895.

AUTEURS.	BIBLIOGRAPHIE.	NOMBRE de cas traités.	MORTALITÉ en %.	OBSERVATIONS.
Ehrlich, Kossel et Wassermann.	*Deutsche med. Woch.*, 1894	233	23	
Roux	Comm. au Congrès de Budapest, 1894 . .	448	24.5	
Aronson.	*Deutsche med. Woch.*, 1894, 42	255	12 1	
Katz	*Münch. med. Woch.*, 1894, 543 . . .	128	13.2	Avant le sérum : 37 %
Kuntzen.	*Deutsche med. Woch.*, 1894, 918 . . .	25	12	
Hager	*Centralbl. f. inn. Med.*, 1894, 48	26	8	
Körte.	*Deutsche med. Woch.*, 1894, 45	132	33.1	
Bokai.	*Deutsche med. Woch.*, 1895, 11, IV. . .	120	25.5	Avant le sérum : 60 %
Körger	*Deutsche med. Woch.*, 1894, 48	30	7	
Kossel	*Zeitsch. f. Hyg.*, Bd XVII	119	11 1	
Vierordt.	*Deutsche med. Woch.*, 1895, 11	55	14.6	Avant le sér. {1893 : 50 % / 1894 : 37 %}
Soltmann	*Deutsche med. Woch.*, 1895, 4	122	18	Avant le sérum : 40 %
Widerhofer. . . .	*Deutsche med. Woch.*, 1895, 2	100	24	Avant le sérum : 52 %

Witthauer	*Therap. Monatshefte*, II	36	14	
Heim	*Wien. med. Woch.*, IV	27	2.2	
Washbourn. . . .	*Brit. med. Journ.*, 1773	80	19.4	
Hopit. Trieste . . .	*Deutsche med. Woch.*, 1894, 52	236	22	Avant le sérum : 50 %
Blumenfeld. . . .	*Wien. klin. Woch.*, 1895, 3	50	6	
Unterholzner . . .	*Wien. med. Woch.*, 1895, 4	36	25	
Sims Woodhead . .	*The Lancet*, 1894, 15, XII	149	11	
Hahn	*Soc. méd. berl.*, 1894, XII	205	24	
Baginsky	XIIIe Congrès de méd. interne, avril 1895.	585	15.1	Avant le sérum : 41 %
Escherich	*Diphth. und Serumth. Wien*	87	9.2	
Heubner.	XIIIe Congrès de méd. interne, avril 1895.	181	10	
Ranke	— — —	124	22.4	Avant le sérum : 41 %
Widerhofer. . . .	— — —	300	14.3	Avant le sérum : 40.8 %
Rauchfuss	— — —	100	21	Avant le sérum : 55 %
Moizard	*Gaz. des Hôpit.*, 1894, 7, VII	231	14.7	
Lebreton	*Soc. méd. des Hôpit.*, 1894, XII	242	11.5	
Rabot.	*Lyon médical*, 1894, 16, XII	47	34	
Funck	Institut sérothérapique de Bruxelles . .	97	12.3	

trachéotomie, ou lorsque la maladie, arrivée à sa période terminale, ne laisse plus d'espoir de guérison et que les parents consentent à porter leur enfant à l'hôpital comme dernière ressource. Or, le sérum agit surtout lorsqu'il est appliqué au début de l'affection, et on a insisté depuis longtemps sur la nécessité de l'injection précoce, pratiquée le plus tôt possible, dès l'apparition des premiers symptômes.

Quoi qu'il en soit, le tableau que nous donnons ci-après est suffisamment démonstratif et met en évidence que, même lorsque le sérum est appliqué dans des conditions relativement mauvaises, il contribue à diminuer la mortalité dans des proportions auxquelles aucun autre mode de traitement n'a pu prétendre jusqu'ici.

Cas graves et cas légers.

Avant l'introduction des méthodes sérothérapiques, on avait coutume de classer les angines pseudo-membraneuses en cas graves et en cas légers : cette division est tout à fait artificielle, et on a pu observer maintes fois qu'un cas léger, qui paraissait peu inquiétant au début, pouvait s'aggraver subitement en quelques heures, nécessiter une trachéotomie urgente, et à l'opération, on constatait un envahissement prononcé des bronches par les fausses membranes, processus relativement ancien et remontant tout au moins à plusieurs jours.

Il n'est pas rare de constater que des cas considérés comme bénins succombent en quelques heures, comme Heubner l'a fait remarquer à propos des diphtéries larvées. Kuntzen va plus loin et prétend que lorsqu'il s'agit de diphtérie, le pronostic est toujours grave et que le fait d'avoir momentanément des symptômes peu alarmants ne doit jamais conduire le médecin à émettre un pronostic trop favorable ou à appliquer un traitement peu énergique.

Classification d'après le pronostic.

Reconnaissant l'inutilité des statistiques générales, Heubner a proposé de diviser les affections diphtériques d'après le pronostic que le praticien croit pouvoir émettre, en tenant compte du cours de la maladie jusqu'au moment de l'injection. Il a recommandé aux médecins qui appliquent le sérum, de se demander, au moment de pratiquer l'injection, dans laquelle des trois catégories suivantes le cas en présence duquel ils se trouvent, peut être rangé. En effet, avant l'emploi du sérum :

I. *Le pronostic était bon,* si la maladie n'en était qu'au premier ou au second jour, avec un exsudat très minime et bien localisé; si les ganglions étaient peu gonflés; s'il n'y avait pas de symptômes de faiblesse cardiaque ou d'intoxication générale; si le malade était âgé de plus de 4 ans.

II. *Le pronostic était douteux,* si l'exsudat se trouvait localisé à plusieurs endroits, si l'affection avait débuté dans le nez et était descendue de là dans la gorge ; si le gonflement ganglionnaire était douloureux, le pouls petit et fréquent, la face pâle et anxieuse ; si le malade avait perdu l'appétit et s'il était âgé de 2 à 4 ans.

III. *Le pronostic était mauvais*, si l'on constatait un développement abondant des fausses membranes sur les amygdales et la luette; s'il existait un gonflement ganglionnaire volumineux; si la coloration du visage était d'un gris plombé, avec pouls fréquent, fièvre intense, les tons du cœur faibles, des troubles vocaux manifestes et enfin, si l'enfant était âgé de moins de 2 ans.

Les appréciations personnelles.

« Lorsqu'on se sera fait de cette façon des statistiques personnelles, disait Heubner, basées » sur l'examen consciencieux et complet du cas, » avant et après l'injection, on aura vite acquis » l'impression exacte de tout ce qu'on est en » droit d'attendre du nouveau remède. »

Katz [1] s'est également appuyé sur le pronostic pour ranger ses cas, qu'il divise en quatre classes : cas légers, moyens, graves et septiques, ajoutant encore à la classification de Heubner la

[1] KATZ, *Berlin. klin. Wochenschr.*, 1894, nº 29.

catégorie des diphtéries septiques, où le sérum n'a pour ainsi dire plus d'action.

Ces classifications d'après le pronostic ne nous semblent pas propres à démontrer l'influence exacte du sérum sur la marche, sur l'évolution de la diphtérie. Nous préférons de beaucoup la classification naturelle, adoptée par Escherich (1), et qui nous paraît apte à donner beaucoup plus exactement la mesure de l'action intime du sérum dans un cas donné de diphtérie.

Classification d'Escherich.

Il est impossible de juger de la valeur d'un traitement anti-diphtérique comme on le ferait pour une maladie presque toujours identique à elle-même et dont les manifestations se reproduisent avec une régularité parfaite. Dans l'affection qui nous occupe, il est nécessaire de diviser les cas d'après l'évolution clinique, de les grouper naturellement, d'après les symptômes observés, et c'est cette considération importante qui nous a amené à pouvoir constater que le sérum agit dans certaines formes cliniques et pas dans d'autres.

Escherich a établi une classification naturelle des cas qu'il a traités par la sérothérapie. Cette méthode permet de comprendre l'action intime du sérum dans les formes variées que peuvent revêtir les manifestations de la diphtérie.

Les formes cliniques de la diphtérie.

(1) Escherich, *Dipht.*, *Croup*, *Serumth.*, Vienne, 1895.

Éliminant d'abord de sa classification les diphtéries secondaires qui sont liées à l'évolution d'autres affections contagieuses, telles que la rougeole ou la scarlatine, l'auteur a divisé les diphtéries primitives en trois groupes distincts : dipthérie *localisée, progressive* et *septique*.

Diphtérie localisée

I. La *diphtérie localisée,* siégeant sur le pharynx et les amygdales, comprend deux formes principales, distinguées d'après le développement des fausses membranes : la forme catarrhale et la forme membraneuse.

1. Forme catarrhale.

A. La première (diphtérie catarrhale) a des membranes généralement disséminées, peu développées et comprend les angines lacunaires et pultacées; parfois les productions membraneuses manquent complètement et la diphtérie ne se reconnaît qu'à l'examen bactériologique qui permet de déceler la présence du bacille spécifique.

En un mot, cette forme représente l'ancienne *diphtérie ponctuée,* qui fut opposée à la *diphtérie confluente.*

2. Forme membraneuse.

B. La seconde forme (diphtérie membraneuse) est caractérisée par une production plus ou moins abondante de membranes, dont l'arrière-gorge tout entière est tapissée. Les membranes se développent en surface, passent d'une amygdale à l'autre et entreprennent la luette.

C'est la diphtérie typique, celle qui présente

les caractères cliniques que Bretonneau lui avait assignés. Il arrive également que la respiration nasale soit gênée et qu'un écoulement séreux indique que les parties postérieures des fosses nasales sont envahies par la lésion spécifique.

II. La *diphtérie progressive* comprend la seconde catégorie des affections diphtériques : elle se caractérise par l'extension rapide du processus au larynx et à la trachée ; ces organes sont même parfois entrepris dès le début et constituent les premiers symptômes appréciables de l'affection. La sténose laryngée, le croup ascendant s'annoncent par une toux aboyante, une aphonie presque complète ; les phénomènes concomitants peuvent devenir aussi très alarmants : la fièvre est élevée, les ganglions sous-maxillaires énormément engorgés et l'albumine plus ou moins abondante. Dans quelques cas, la fièvre reste peu intense et même irrégulière et les troubles dans l'état général sont peu alarmants, tant que le processus diphtérique n'a pas atteint le larynx. Au lieu de progresser, les lésions peuvent, plus rarement, il est vrai, rétrocéder et conduire à la guérison. Diphtérie progressive.

III. La troisième division, la *diphtérie septique*, constitue la forme la plus grave et comprend les cas où les symptômes généraux d'intoxication se combinent à des manifestations locales graves, évoluant en processus nécrotiques et gangréneux. Diphtérie septique.

Ces diphtéries sont généralement considérées comme mortelles et offrent le tableau clinique d'une véritable septicémie, parfois de nature foudroyante.

Avantages de la classification clinique.

La classification d'Escherich, telle que nous l'avons résumée, présente les plus grands avantages pour l'appréciation des effets de la sérothérapie; il n'est pas inutile de rappeler la différence considérable qu'il y a à pouvoir déclarer que le sérum a amené la guérison de dix cas légers ou de dix cas de gravité moyenne; si dans la seconde hypothèse, le sérum n'avait même sauvé que la moitié des malades, ce résultat plaiderait évidemment plus en sa faveur que si les dix cas légers avaient tous guéri : nous savons que sans sérum, ils auraient probablement évolué de même, à l'aide d'un simple traitement local énergique.

Escherich a fait remarquer encore qu'un croup ascendant, sans phénomènes graves d'intoxication et conduisant à la mort par oblitération mécanique des voies respiratoires, peut laisser l'état général du malade tout à fait satisfaisant : la plupart des auteurs rangeront ce cas dans la catégorie des affections graves, tout comme une diphtérie septique qui amène la dégénérescence rapide des organes internes et la mort par intoxication. Ces deux diphtéries, qui sont réunies dans

la plupart des statistiques, doivent être nettement séparées : elles diffèrent complètement au point de vue clinique, et le sérum antitoxique pourra influencer favorablement la première alors qu'il reste pour ainsi dire sans effet sur la seconde. On peut dire, par conséquent, que la méthode clinique, outre ses avantages de clarté et de précision, tient compte des propriétés biologiques du bacille de Löffler et même de la prédisposition individuelle du malade.

Pronostic des groupes cliniques.

Les trois groupes considérés plus haut offrent chacun un pronostic particulier; l'étude d'un certain nombre de cas observés avant la sérothérapie, a conduit l'auteur au résultat suivant :

1. Diphtérie	localisée :	guérisons	100 %
2. —	progressive :	—	44 —
3. —	septique :	—	0 —

Le sérum antitoxique exerce son action principalement dans la seconde forme, dans les cas de diphtérie progressive, comme nous le verrons plus loin.

L'évolution de la première forme, de la diphtérie localisée, est certainement influencée favorablement par l'antitoxine, en ce sens que les membranes disparaissent plus rapidement et que la durée de la maladie est beaucoup diminuée. Quant à la forme septique, le sérum étant un

médicament spécifique, ne pourra agir que médiocrement sur cette variété : les streptocoques, qui jouent le rôle principal dans ces circonstances, viennent d'être combattus avec succès par un nouveau sérum, le sérum anti-streptococcique, et les premiers essais publiés à Paris par M. Marmorek, semblent faire prévoir pour les septicémies des résultats aussi brillants et aussi concluants que ceux obtenus jusqu'ici pour la diphtérie.

Les résultats de la sérothérapie en Belgique.

L'Institut sérothérapique de Bruxelles a été fondé au mois d'octobre 1894, dans le but de mettre le sérum antidiphtérique à la disposition des médecins belges. Nous avons eu l'occasion d'immuniser un certain nombre de chevaux et, depuis le mois de janvier 1895, c'est-à-dire en trois mois, 500 flacons ont été distribués aux médecins qui nous en faisaient la demande.

Nous nous bornerons à rapporter ici l'histoire de 116 malades traités par notre sérum ; nous nous réservons de revenir plus tard sur les observations restantes, dont les détails ne nous sont pas encore parvenus. Nous passerons successivement en revue :

1. Les résultats généraux.
2. La statistique clinique.
3. L'influence de l'âge du malade.
4. L'influence du jour de la maladie.
5. L'action du sérum sur la température.
6. L'influence de la dose injectée.
7. Les causes de la mort pour les cas traités.

I. *Résultats généraux.* — Parmi les 116 malades traités, nous comptons 98 guérisons et 18 morts; soit un total de 84,5 °/o de guérisons et 15,5 °/o de mortalité. Si nous retranchons de ces chiffres 6 cas qui ont été injectés absolument *in extremis,* alors qu'on ne pouvait plus attendre aucun effet du sérum, et 19 cas où l'examen bactériologique a révélé l'absence du bacille de Löffler, nous arrivons à un total de **97 cas** présentant une mortalité générale de **12,3** °/o. Résultats généraux

II. *Statistique clinique.* — Nous avons groupé nos cas d'après la marche clinique, parce que cette méthode nous paraît la plus apte à donner la véritable impression de l'effet du sérum. Statistique clinique.

Comme on le voit dans le tableau ci-après, tous les cas de diphtérie localisée ont guéri avec l'antitoxine; mais il ne faut pas exagérer ce résultat : cette variété de diphtérie guérit aussi, en général, sans sérum, comme le prouvent les sta-

tistiques publiées antérieurement. L'évolution seule de la maladie est notablement raccourcie depuis l'emploi du nouveau remède et les symptômes locaux disparaissent beaucoup plus rapidement.

FORME CLINIQUE.		CAS traités.	GUÉRISONS.	MORTS.	GUÉRISONS en %.
Diphtérie localisée	catarrhale . .	22	22	0	100
	membraneuse.	18	18	0	100
Diphtérie progressive.		45	37	8	82,2
Diphtérie septique.		12	2	10	16,6
Affections diphtéroïdes		19	19	0	100

Les diphtéries septiques sont les moins influencées par le sérum. Nous avons eu l'occasion d'insister déjà sur la part qu'il faut attribuer aux micro-organismes secondaires dans cet insuccès apparent.

Le véritable critérium de l'emploi de l'antitoxine se manifeste dans les résultats obtenus pour la seconde forme, pour les affections progressives, dans laquelle l'appareil respiratoire se trouve généralement entrepris. « L'effet le plus évident de la sérothérapie est constitué par une action spécifique sur le processus local : dissolution rapide des membranes qui se détachent

Action locale du sérum.

facilement et arrêt brusque de leur développement. » Cette affirmation, que nous trouvons dans le travail d'Escherich, semble un peu déroutante à première vue : nous avons été amenés à admettre jusqu'à ce jour plutôt un effet général de l'antitoxine sur l'organisme intoxiqué, tandis que l'action du sérum sur le processus local avait été peu signalée antérieurement. Cette influence que subissent les fausses membranes de la part du sérum apparaît très nettement, lorsque les cas sont groupés d'une façon rigoureusement clinique : on se rend compte, dans ces circonstances spéciales, de la part importante qui revient au sérum dans la chute rapide des membranes et dans l'arrêt brusque de leur développement, en surface comme en profondeur.

Ce qui vient à l'appui de cette manière de voir, c'est que sur les 96 cas dont nous étudions l'histoire, 8 seulement ont dû subir la trachéotomie. Alors même qu'au moment de l'infection il existait un tirage prononcé et des symptômes de sténose déjà avancée, l'opération a pu être retardée et abandonnée complètement lorsque l'antitoxine avait eu le temps de se répandre dans la circulation et d'agir sur les phénomènes locaux.

III. *L'influence de l'âge du malade.* — Le groupement des cas d'après l'âge du malade offre un Influence de l'âge.

certain intérêt et peut donner des renseignements précieux sur l'action du sérum.

AGE.	CAS traités.	GUÉRISONS.	MORTS.	GUÉRISONS en °/o.
0 à 1 an	4	2	2	50
1 à 2 ans	7	4	3	57
2 à 3 —	15	10	5	66
3 à 4 —	13	10	3	77
4 à 5 —	9	8	1	88
5 à 6 —	10	8	2	80
6 à 7 —	8	7	1	87.5
7 à 8 —	7	5	2	71
8 à 9 —	1	1	0	100
9 à 10 —	4	4	0	»
10 à 12 —	4	4	0	»
Au-dessus	5	5	0	»
Inconnu	4	4	0	»

Influence du jour de la maladie.

IV. *Influence du jour de la maladie.* — On a insisté depuis le début de la période sérothérapique sur l'importance de l'application précoce du sérum, dès l'apparition des premiers symptômes : Kossel a groupé ses statistiques d'après le jour de la maladie auquel le sérum était injecté et se basait sur les renseignements de l'entourage du malade. Ces chiffres sont naturellement aléa-

toires : il est difficile de préciser exactement le début d'une affection dont la période d'incubation offre des variétés aussi nombreuses que celles que nous observons dans la diphtérie.

Nous avons cependant tenu à grouper les observations d'après le jour de la maladie auquel le sérum avait été injecté et nous avons réuni à cet effet les indications les plus précises qui nous soient parvenues :

JOUR DE LA MALADIE.	CAS traités.	GUÉRISONS.	MORTS.	GUÉRISONS en %.
I	4	4	0	100
II	21	19	2	90
III	22	15	7	68
IV	13	12	1	92
V	3	3	0	100
VI	3	2	1	66
VII-XIV	7	5	2	71
Inconnu	18	13	5	72

V. *Action du sérum sur la température.* — Sur 58 cas traités par le sérum et diagnostiqués bactériologiquement, nous avons observé **onze** fois une véritable descente critique de la température; celle-ci s'abaissait, en moins de vingt-quatre

Influence du sérum sur la fièvre.

heures, de plus de 2°. Parmi ces 58 cas, vingt-sept fois la température a dépassé 39°.

Il faut noter que cet abaissement critique de la température ne peut se constater que pour les diphtéries vraies; pour les affections diphtéroïdes, où le bacille de Löffler n'est pas en cause, nous n'avons observé qu'une seule fois cette descente rapide de la fièvre.

Behring avait insisté déjà dans ses premières publications sur ce phénomène, qu'on explique parfaitement par les propriétés spécifiques qui sont généralement reconnues au sérum : l'antitoxine agit sur le bacille et ses produits, tandis qu'elle reste sans action sur les affections cliniquement similaires, mais provoquées par des micro-organismes essentiellement différents.

Influence de la dose.

VI. *L'influence de la dose de sérum injectée.* — Le sérum que nous avons obtenu par l'immunisation des chevaux à l'Institut sérothérapique a une valeur antitoxique de cent fois le sérum normal et contient 1,000 unités Behring par dose de 10 c. c. C'est la dose moyenne qui a été injectée dans la grande majorité de nos cas. Dans une petite partie de ceux-ci cependant, l'injection a dû être répétée plusieurs fois : nous possédons des observations où le malade a reçu 4,800 unités et même 5,000 unités : ces cas ont du reste guéri.

Les doses inoculées se répartissent comme suit :

600 unités	: 22 fois,	3 morts.
1,000 —	53 —	6 —
2,000 —	11 —	1 —
Jusque 5,000 —	7 —	2 —

VII. *Les causes de la mort.* — Lorsqu'on examine les causes de la mort qui succède, dans un temps plus ou moins éloigné, à l'injection d'antitoxine, on acquiert la conviction que la plupart de ces malades ont été injectés trop tard, à un moment où l'action du sérum ne pouvait plus être d'aucune utilité. La plupart des enfants qui ont succombé avaient cependant reçu une dose double et souvent triple de sérum, comme il ressort du tableau ci-après.

CHAPITRE XIII.

LA PROPHYLAXIE DE LA DIPHTÉRIE.

Le sérum employé comme moyen préventif.

Nous avons insisté dans un chapitre précédent, sur l'importance du diagnostic bactériologique, pour permettre de reconnaître une diphtérie avant l'éclosion de symptômes cliniques bien

Les causes de la mort.

AGE.	FORME clinique.	UNITÉS injectées.	JOUR de la maladie.	LÉSIONS OBSERVÉES.
2 ans.	D. progressive.	1,000	2e	Obstruction mécanique.
2 —	—	»	3e	Mort dans l'opération.
3 —	—	1,800	4e	Croup *in extremis*. Trachéotomie.
3 —	—	1,000	»	*In extremis.*
3 1/2 —	—	1,000	»	Obstruction mécan. des bronches.
5 1/2 —	—	»	»	Obstruction mécan. des bronches.
2 —	D. septique.	1,000	3e	Broncho-pneum. à strept.
8 —	—	»	?	Broncho-pneumonie (*in extremis*).
6 —	—	600	7e	Broncho-pneumonie.
1 —	—	4,800	9e	Broncho-pneumonie.
4 —	—	600	3e	Croup *in extremis*.
1 —	—	2,000	6e	Intoxication générale.
3 —	—	3,600	6e	Broncho-pneum. à strept.
7 —	—	1,000	3e	Myocardite.
3 —	—	1,000	3e	Broncho-pneumonie.
4 1/2 —	—	600	?	Septicémie généralisée.

caractérisés : l'utilité de ce diagnostic précoce est grande, non seulement pour permettre d'appliquer le remède dès le début, puisque c'est à cette période qu'on en obtient les meilleurs résultats,

mais encore pour isoler le malade à temps et contribuer ainsi pour une grande part à la prophylaxie réelle de la diphtérie. De même, après l'évolution de la maladie, lorsque tous les symptômes ont disparu, il est d'usage de remettre l'enfant en contact avec des personnes saines; on ne recherche pas si oui ou non le malade est porteur de germes de diphtérie qui, par leur présence, constitueront un danger constant pour lui-même, puisqu'ils causeront ces récidives qui ne sont que trop fréquentes, et pour les personnes avec lesquelles il pourrait se trouver en contact, spécialement ses frères et sœurs : ce mode de propagation explique bien des cas de contagion directe après guérison [1], malgré l'emploi des plus grandes mesures de désinfection et la certitude dans laquelle on se trouve de s'être mis dans les conditions les plus strictes, prescrites par l'hygiène des maladies infectieuses.

Modes de contagion.

[1] Abel a publié un cas de diphtérie remarquable par la persistance des bacilles dans la bouche de la malade; soixante cinq jours après la disparition des membranes, il en a encore obtenu des cultures, qui, inoculées au cobaye, étaient parfaitement virulentes et tuaient les animaux en deux ou trois jours avec les symptômes caractéristiques de la diphtérie. (ABEL, *Zur Kenntniss der Diphteriebacillus*. DEUTSCHE MEDICIN. WOCHENSCHRIFT, nº 55.)

On a constaté depuis longtemps que certaines personnes étaient réfractaires à la diphtérie, et on a même trouvé dans leur gorge des bacilles qui étaient identiques, morphologiquement et biologiquement, au bacille de Löffler. Hallock Park et Beebe (1) ont trouvé chez 330 personnes bien portantes, vingt-quatre fois le bacille diphtérique, avec tous ses caractères, y compris la virulence. Les auteurs pensent devoir rapporter ce résultat à ce fait que les personnes examinées auraient été en contact avec des diphtériques ou auraient elles-mêmes été atteintes d'une diphtérie très légère.

Persistance du bacille chez les convalescents.

Ils ont étudié également la persistance du bacille diphtérique dans la bouche des convalescents. 605 convalescents examinés par eux se répartissent comme suit :

4 j.	après la maladie,	les bactéries existent	dans la	moitié des cas.
7	—	—	—	176 cas.
12	—	—	—	64 —
15	—	—	—	36 —
21	—	—	—	12 —
30	—	—	—	4 —
37	—	—	—	4 —

Avantages de l'isolement.

Les auteurs anglais ont produit un argument frappant en faveur de l'isolement rigoureux des malades :

(2) Hallock Park, *Loc. cit.*

« Chez les frères et sœurs d'enfants non isolés, » ils ont retrouvé le bacille dans la bouche » dans **50** % des cas examinés et 40 % eurent » la diphtérie consécutivement, tandis que chez » les parents de malades isolés, ils n'ont décelé » la présence du bacille spécifique que dans » **10** % des cas. » Wassermann [1] a fait des expériences très intéressantes sur ce sujet : il a démontré que le sérum d'un certain nombre de personnes, bien portantes et n'ayant jamais eu la diphtérie, possède une action antitoxique suffisante pour neutraliser, à la dose de 1 c. c., dix fois la dose mortelle de poison diphtérique pour un cobaye.

Immunité relative de certaines personnes.

Cette action s'est confirmée sept fois sur huit, pour des personnes âgées de plus de 40 ans; dix fois sur quatorze, pour des individus de 20 à 40 ans, et cinq fois sur dix seulement, pour les enfants.

Ces expériences démontrent que certaines personnes possèdent une immunité contre la diphtérie, résistance qui augmente avec l'âge et explique la disposition spéciale des jeunes enfants à être atteints par la maladie. Ces faits sont également importants au point de vue pro-

[1] WASSERMANN, *66. Versammlung der Gesellschaft deutscher Naturforscher und Aerzte.* Wien, sept. 1894.

phylactique : ils permettent de vérifier, par une méthode très simple, si certaines personnes ont une prédisposition quelconque à contracter la diphtérie, indication qui peut intéresser au même titre un médecin qui se trouve souvent en rapport avec des diphtériques, et le personnel attaché aux services hospitaliers.

Constatations intéressantes de Löffler.

Löffler a rapporté qu'ayant eu l'occasion d'examiner la gorge de 160 enfants dans une école, il a retrouvé le lendemain, dans 4 cas, des bacilles de la diphtérie tout à fait typiques. Il se rendit immédiatement à l'école pour constater si les quatre enfants porteurs de bacilles ne présentaient aucun symptôme visible de la maladie; voici ce qu'il constata :

On lui apprit d'abord que le premier enfant, qui, la veille, n'avait aucune lésion apparente dans l'arrière-gorge, n'était pas venu en classe et qu'il était atteint de diphtérie.

Chez le second, Löffler put découvrir des symptômes de diphtérie latente; l'enfant était mal disposé, mais ne s'était pas plaint chez lui et était assis actuellement entre ses condisciples.

Le troisième avait un léger engorgement ganglionnaire et le quatrième était bien portant. Ces deux derniers ne furent pas atteints.

Le bacille chez les personnes saines.

Nous avons vu précédemment que beaucoup d'observateurs avaient retrouvé le bacille dans

la gorge de personnes bien portantes ; ces faits ont été confirmés par les travaux de C. Fränkel et de Roux et Yersin. Quoiqu'on ne puisse pas encore donner une explication exacte de ces particularités, les recherches entreprises actuellement ont pu éclaircir une partie de ce problème obscur. Nous savons que certains individus sont réfractaires à la diphtérie; on peut en conclure *a priori* qu'ils seront très souvent la cause de la dissémination de la maladie : ils transportent les germes, les communiquent à d'autres individus, sans tomber malades eux-mêmes.

Danger des rhinites fibrineuses.

Dans cet ordre de faits, on sait que les affections connues sous le nom de *rhinites fibrineuses* sont presque toujours occasionnées par le bacille diphtérique. Elles sont particulièrement dangereuses, non par *elles-mêmes*, car les symptômes qu'elles occasionnent sont bénins et passent même souvent inaperçus, mais parce qu'elles permettent au porteur de l'affection, peu entrepris lui-même, d'être une cause de contagion continuelle pour les personnes avec lesquelles il se trouve en contact.

Presque toujours les deux cavités nasales sont atteintes; Abel et Dunn ont cependant chacun rapporté un cas de rhinite diphtérique unilatérale.

Dans les intéressantes conférences que Martin

a données à l'Institut Pasteur, cet auteur a également mis en évidence le danger de la contagion dans les cas de rhinite; il dit à ce propos : « Il faut toujours se défier des écoulements du nez, des rhinites, au moment des épidémies de diphtérie. Tout dernièrement, un enfant atteint de rhinite est resté cinq semaines en contact avec ses deux frères qu'il a contaminés et qui ont été atteints de diphtérie; chez lui, la maladie n'a été diagnostiquée que postérieurement. »

Le diagnostic au point de vue prophylactique.

D'après ce qui précède, nous voyons que l'examen bactériologique, pratiqué non seulement dans le but de faire un diagnostic d'angine suspecte, mais également pour constater la persistance du bacille chez les convalescents, constitue la véritable prophylaxie de la diphtérie. Il permet d'isoler à bon escient les malades pendant la convalescence, c'est-à-dire pendant toute la durée de leur affection « latente » et d'éviter ainsi des contagions qui ne sont que trop fréquentes dans les familles et dont on peut à chaque instant déplorer les conséquences funestes. La condition la plus importante pour la prophylaxie se trouve dans l'ISOLEMENT DU MALADE, isolement qui doit être pratiqué à temps et continué pendant suffisamment longtemps. La méthode sérothérapique vient de nous fournir un autre moyen prophylactique constitué par l'immunisation des per-

L'immunisation par le sérum.

sonnes non atteintes et qui se trouvent en contact continuel avec des malades : c'est le but que remplit l'injection préventive, qui a déjà donné en Allemagne et en France les résultats les plus satisfaisants; les effets et l'innocuité du sérum sont suffisamment constatés actuellement, pour qu'il soit du devoir de tous les médecins de pratiquer, comme moyen prophylactique, l'injection de sérum aux enfants d'une famille dans laquelle s'est produit un cas de diphtérie. Cette injection est très simple, puisqu'elle ne comporte, comme nous l'allons voir, que la dose ordinaire d'une injection hypodermique.

Behring et Ehrlich avaient recommandé l'emploi du dixième de la dose thérapeutique simple (60 unités). Après un grand nombre d'essais (environ **10,000 cas**), ils ont augmenté cette dose parce que, sur ce grand nombre de personnes, dix avaient néanmoins contracté la diphtérie consécutivement à l'injection. Il s'agissait là probablement d'individus infectés avant l'intervention et qui paraissaient bien portants, alors qu'en réalité ils se trouvaient déjà sous l'influence de la maladie. Or, comme les expériences de Behring l'ont démontré, pour arrêter le processus diphtérique dans cette circonstance, la dose thérapeutique elle-même ne suffirait pas : ce qu'on peut constater toujours, c'est que le cours de la maladie

est alors plus léger et offre une évolution toute bénigne.

Behring (1) rapporte, dans son dernier travail, qu'après avoir débuté par la dose d'une unité antitoxique, dose qui a été immédiatement considérée comme insuffisante, il est monté successivement à 5 unités, puis à 15, puis à 60. Actuellement, il recommande le quart de la dose thérapeutique : 150 unités. Grâce au sérum fortement antitoxique que nous obtenons aujourd'hui, ces 150 unités sont contenues dans 1 à 1 1/2 c. c., ce qui représente une injection anodine, facile à pratiquer et ne nécessitant qu'une seringue de Pravaz ordinaire.

Simplicité et avantages de l'injection.

On s'est demandé combien de temps dure cette protection, cette immunisation passive de l'organisme contre la contagion.

Durée de l'immunisation.

Les expériences ne sont pas encore concluantes à cet égard : on sait cependant que cette action préventive se maintient d'autant plus longtemps que l'injection a été plus forte, plus concentrée, au point de vue du nombre des unités antitoxiques introduites dans l'organisme. L'antitoxine est retrouvée dans les sécrétions et diminue petit à petit dans le sang : il est évident que

(1) BEHRING, *Zur Diphtherie-Immunisirungs Frage.* (DEUTSCHE MED. WOCHENSCHR., 1894, nº 46.)

plus on en aura introduit, plus longtemps son action se fera sentir. L'injection de 60 unités a été considérée comme préservant pendant six semaines; celle de 150 unités, recommandée actuellement, protège proportionnellement moins parce que, à la suite d'une injection plus concentrée, il s'élimine une plus grande quantité d'antitoxine.

D'après les dernières publications, on peut compter sur un effet préventif suffisant pendant *dix semaines*. Si le danger est très grand, au milieu d'une épidémie grave, par exemple, il est recommandé de renouveler cette injection sans différence d'âge ou de constitution.

Il est inutile de rappeler que l'injection, quoique se faisant avec une seringue de Pravaz ordinaire, nécessite tous les soins d'asepsie recommandés à propos de l'injection thérapeutique.

Le fait que sur **10,000 cas** immunisés, **10 seulement** ont été consécutivement atteints, et encore d'une façon toute bénigne, nous autorise à attendre avec confiance les résultats du progrès important que cette méthode nouvelle vient d'apporter dans la prophylaxie de l'affection meurtrière à l'étude de laquelle nous avons consacré ce modeste travail.